

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE VETERINARIA
Departamento de Toxicología y Farmacología



**INFLUENCIA DE LA GOTERA RETICULAR EN LA
BIODISPONIBILIDAD DE LOS MECLOFENAMATOS
POR VÍA ORAL EN ÓVIDOS ADULTOS**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR**

M^a Teresa Encinas Cerezo

Bajo la dirección de los doctores

**Manuel Ignacio. San Andrés Larrea
Casilda Rodríguez Fernández**

Madrid, 2002



CATEDRA DE FARMACOLOGIA
FACULTAD DE VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

INFLUENCIA DE LA GOTERA RETICULAR EN LA
BIODISPONIBILIDAD DE LOS MECLOFENAMATOS
POR VIA ORAL EN OVIDOS ADULTOS

Teresa Encinas Cerezo
Madrid, 1993.

TRABAJO QUE PRESENTA LA LICENCIADA Dña
TERESA ENCINAS CEREZO PARA ASPIRAR AL GRADO
DE DOCTOR

A handwritten signature in dark ink, appearing to be 'T. Encinas Cerezo', written over a faint, rectangular grid or stamp.

Fdo.: Teresa Encinas Cerezo

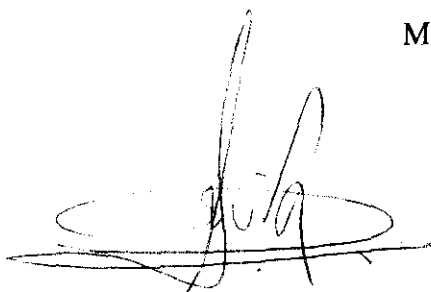
Madrid, Octubre 1993.

D. MANUEL IGNACIO SAN ANDRES LARREA, Profesor Titular de Universidad de Farmacología y Terapéutica Veterinarias y Dña. CASILDA RODRIGUEZ FERNANDEZ, Profesora Titular de Escuelas Universitarias de Farmacología y Terapéutica Veterinarias, ambos de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid.

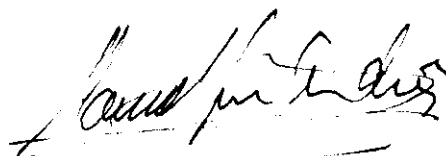
CERTIFICAN:

Que la memoria presentada por la Licenciada en Veterinaria Dña. Teresa Encinas Cerezo con el título "Influencia de la gotera reticular en la biodisponibilidad de los meclofenamatos por via oral en ovidos adultos" ha sido realizada bajo nuestra dirección en los laboratorios de la Cátedra de Farmacología.

Madrid, Octubre de 1993.



Fdo.: C. Rodríguez Fernández



Fdo: M.I. San Andrés Larrea

Quiero dar las gracias a mis Directores de Tesis, Casilda y Manolo, por su labor de dirección. Ambos han compartido conmigo las alegrías y decepciones del trabajo. Su dirección ha sido una guía permanente que me ha permitido desarrollar este trabajo con libertad e independencia.

A D. Emilio Ballesteros que ha confiado en nosotros y nos ha ofrecido en todo momento su apoyo y los medios de la Cátedra de Farmacología que hemos necesitado.

A la firma PARKE DAVIS por cedernos los fármacos utilizados en este trabajo. Especialmente a D. Josep M^a Sol y D. Raul Insa que se han esmerado en atendernos cuantas veces hemos requerido su ayuda.

Al Departamento de Producción Animal de nuestra Facultad, especialmente a D. Jaime Tos y a D. Miguel Ibañez que nos han cedido los animales utilizados en la experimentación.

A Dña. Margarita Arboix que nos ofreció el soporte informático necesario para el procesado de los datos. A Carmen, que hizo realidad esta ayuda.

A Todos los componentes de la Cátedra de Farmacología, por su ayuda y su estímulo, cada uno a su manera. Especialmente a Emma, que a compartido conmigo muchas horas de laboratorio, de ayuda y de amistad. A Mariano, que ha invertido su paciencia en ayudarme a preparar la presentación del trabajo. A Mara, Juan Carlos, Mariló, José María, D. Rafael, Cristina, Fernando, Javier, Rafa y M^a Angeles que me han enseñado a disfrutar trabajando.

A mis compañeros y alumnos de la Facultad y de la Coral Veterinaria Complutense, que se han preocupado por el progreso de este trabajo. Especialmente a Juan Carlos, Isabel, Iñaki y Pilar.

A Eduardo, Eulogio, Jose, Juanito y Pablo, que me han ayudado siempre con agrado en el manejo de los animales.

A mi familia y amigos, que nunca se han quejado del tiempo que les ha restado este trabajo. Gracias también a Pepe y a Carmen.

A mi familia
A mis amigos

I.- JUSTIFICACION	1
II.- REVISION BIBLIOGRAFICA	4
II.1.- GOTERA RETICULAR	5
II.1.1.- Estructura de la gotera esofágica	5
II.1.1.1.- Anatomía	5
II.1.1.2.- Histología	9
II.1.1.3.- Organogénesis e Histogénesis	11
II.1.1.4.- Fisiología	14
II.1.1.5.- Patología	27
II.1.2.- Función de la gotera en la Nutrición	31
II.1.3.- Función de la gotera en la Farmacocinética	36
II.1.3.1.- Repercusión de la fisiología en la farmacocinética	36
II.1.3.2.- Modelos farmacocinéticos de absorción especiales para rumiantes	43
II.1.3.3.- Problemática de la quimioterapia vía oral	48
II.1.3.3.1.- Antibióticos	51
II.1.3.3.2.- Sulfamidas	55
II.1.3.3.3.- Antiparasitarios	59
II.1.3.4.- Problemática de la terapia antinflamatoria	65
II.1.3.5.- Aplicaciones terapéuticas	68
II.1.3.6.- Toxicocinética	73
II.1.4.- Control del estado fisiológico de la gotera	74
II.1.4.1.- Métodos para detectar el estado de apertura o cierre de la gotera	74
II.1.4.2.- Métodos para provocar el cierre de la gotera en adultos	81
II.2.- MECLOFENAMATOS	87
I.2.1.- Actividad farmacológica	91
II.2.2.- Mecanismo de acción	94
II.2.3.- Farmacocinética	100
II.2.4.- Toxicidad y efectos adversos	105
II.2.5.- Aplicaciones terapéuticas en Veterinaria	108
II.2.6.- Aplicaciones experimentales en Veterinaria	112

III.- MATERIAL Y METODOS	115
III.1.- MATERIAL	116
III.1.1.- Material biológico	116
III.1.2.- Fármacos	116
III.1.3.- Reactivos	118
III.1.4.- Material fungible	118
III.1.5.- Instrumentación	119
III.2.- METODOS	120
III.2.1.- Adaptación y preparación de los animales	120
III.2.2.- Metodología analítica	122
III.2.3.- Comprobación del cierre de la gotera reticular	125
III.2.4.- Administración endovenosa de meclofenamato sódico	127
III.2.5.- Administración vía oral	130
III.2.6.- Tratamiento cinético	134
III.2.7.- Tratamiento estadístico	135
IV.- RESULTADOS	136
IV.1.- Método analítico del meclofenamato sódico	137
IV.2.- Comprobación del cierre de la gotera reticular	145
IV.3.- Administración intravenosa	149
IV.4.- Administración oral	155
IV.4.1.- Administración oral de meclofenamato sódico y pretratamiento con suero endovenoso	155
IV.4.2.- Administración oral de meclofenamato sódico y pretratamiento con Lys-vasopresina endovenosa	163
IV.4.3.- Administración oral de ácido meclofenámico y pretratamiento con suero endovenoso	170
V.- DISCUSION	178
V.1.- Del Método	179
V.1.1.- Método analítico	179
V.1.2.- Comprobación del cierre de la gotera reticular	182
V.1.3.- Administración de meclofenamatos por distintas vías	185
V.1.4.- Tratamiento farmacocinético y estadístico	188
V.2.- De los resultados	191
V.2.1.- Administración endovenosa	193
V.2.3.- Administración oral	195
V.2.3.- Biodisponibilidad	206
VI.- CONCLUSIONES	209
VII.- RESUMEN	212
VIII.- BIBLIOGRAFIA	217

ABREVIATURAS

a	Constante de la fase de distribución.
a.	Arteria.
A	Coefficiente de la fase de distribución.
ABC	Area bajo curva en cromatogramas.
ac.	Acido.
AINE	Antiinflamatorios no esteroideos.
AUC	Area bajo curva en gráficas de concentración plasmática frente al tiempo.
β	Constante de la fase de eliminación.
B	Coefficiente de la fase de eliminación.
Cl	Aclaramiento.
C_{max}	Maximo de concentración plasmática.
C.V.	Coefficiente de variación.
E.S.	Estadísticamente significativo.
E.S.M.	Error standard medio.
e.v.	Endovenoso.
F	Biodisponibilidad.
Ka	Constante de la fase de absorción.
n.	Nervio.
NEFA	Acidos grasos no esterificados.
O	Coefficiente de la fase de absorción.
p.o.	<i>Per os</i> .
P.V.	Peso en vivo.
$t_{1/2\alpha}$	Semivida de la fase de distribución.
$t_{1/2\beta}$	Semivida de la fase de eliminación.
$t_{1/2O}$	Semivida de la fase de absorción.
t_{max}	Tiempo al que aparece un máximo de concentración plasmática.
TMR	Tiempo medio de residencia.
U.V.	Ultravioleta.
V.inter	Variación interdía.
V.intra	Variación intradía.
V.C.	Vértex-caudal.
Vd	Volumen de distribución.
V/O	Vía oral

I.- JUSTIFICACION

I.- JUSTIFICACION

El estómago de los rumiantes, con cuatro cavidades sumamente especializadas y una fisiología complicada, es una muestra de la adaptación de los animales al medio en que viven. La digestión y el aprovechamiento de la celulosa del alimento no sería posible en los rumiantes sin la existencia de su estómago pluricavitario.

Sin embargo, este hecho, que resulta imprescindible para la vida del animal, puede plantear muchos problemas cuando el hombre intenta intervenir para conservarla. Precisamente el gran volumen del estómago de los rumiantes, especialmente el reticulorumen, es el principal obstáculo que encuentra el veterinario en la terapéutica de estas especies, cualquiera que sea la vía de administración, máximo cuando se trata de vía oral.

Las funciones que se realizan en esta porción del aparato digestivo, necesarias para la nutrición del animal (actividad microbiana, dilución y estratificación en rumen, cierre de gotera reticular, limitación de la absorción en rumen, tamponización de la saliva, medio anaeróbico y reductor, rumia, eructo, ...) pueden ser positivas o negativas sobre la actuación de los fármacos pero, en cualquiera de los casos, suponen un gran número de factores que es necesario controlar. Hoy en día no es muy amplio el conocimiento que tenemos sobre estos temas.

Dentro de las repercusiones que la actividad gástrica puede tener en la farmacocinética de fármacos en rumiantes para nosotros tiene gran importancia la actividad de la gotera esofágica o gotera reticular.

La gotera reticular es una estructura anatómica en forma de surco que se

encuentra en el conjunto de los estómagos "aglandulares" de los rumiantes. Comunica el esófago con el omaso y tiene capacidad para convertirse en un tubo cerrado. Cuando esto sucede, la ingesta puede dirigirse directamente al omaso y de éste a abomaso, eludiendo el reticulorrumen.

La importancia de la actividad de esta estructura se encuentra en que los alimentos o fármacos que pasan a su través se ven privados de los fenómenos que tienen lugar en la cavidad reticulorruminal, que es la zona más activa del conjunto proventricular.

Nosotros pretendemos aportar datos sobre la influencia del cierre de la gotera reticular en la biodisponibilidad de fármacos administrados por vía oral. Existen algunos trabajos al respecto, con un enfoque evidentemente práctico, ya que analizan los efectos del cierre de la gotera en función de la evolución del proceso patológico tratado (MIKHAIL, 1987).

Nos hemos centrado en el estudio sobre meclofenamatos en ovejas debido a la existencia previa de datos (MARRINER y BOGAN, 1979) que hacen sospechar una intervención de la contracción de la gotera en la absorción de estos compuestos. Este hecho se puede complicar por la implicación de los propios meclofenamatos en el cierre de la estructura.

II.- REVISION BIBLIOGRAFICA

II.- REVISION BIBLIOGRAFICA.

II.1.- GOTERA RETICULAR.

II.1.1.- Estructura de la gotera esofágica.

II.1.1.1.- Anatomía.

La gotera esofágica o reticular es una estructura anatómica que se halla en el estómago pluricavitario de los rumiantes, en un conjunto denominado canal gástrico. Éste se encuentra compuesto por dos partes fundamentales: la gotera esofágica (*sulcus reticuli*) y el surco omasal (*sulcus omasi*). Ambas partes se encuentran dispuestas en sentido longitudinal respecto al eje principal de los proventrículos digestivos y de forma consecutiva (HABEL, 1982; RUCKEBUSCH, 1977). Algunos autores contemplan una tercera estructura, el surco abomasal (*sulcus abomasi*), que constituye la continuación de la gotera omasal (Nómina Anatómica Veterinaria, 1983).

El surco esofágico se encuentra localizado en la pared derecha del retículo, desde el cardias hasta el orificio retículo-omasal, y sus dimensiones oscilan entre 18-20 cm (HABEL, 1982), 15-20 cm y 15-18 cm (KRAHMER, 1982) en los bóvidos y alrededor de 10 cm en óvidos y cápridos. El surco omasal presenta una longitud de 6-7 cm (KRAHMER, 1982) a 10-12 cm (HABEL, 1982) en el ganado vacuno y se sitúa en el puente del omaso, a continuación del orificio retículo-omasal. Ambos se reflejan en la cara externa de las paredes de los proventrículos mediante haces de fibras musculares longitudinales que marcan su curso (FIGURA II.1).

La gotera esofágica se encuentra perfectamente delimitada y consta de tres



FIGURA II.1.- Disposición de la gotera reticular en la cavidad abdominal de los bóvidos (ASHDOWN y DONE, 1984) .

partes diferenciadas, mientras el surco omasal constituye una sola entidad diferenciada en la pared del librillo, formada por dos pliegues, con papilas largas y gruesas, que delimitan una zona de mucosa carente de las hojas típicas de este reservorio. Así, en el surco reticular se distinguen: el suelo (*fundus sulci reticuli*) y los dos labios o pliegues, derecho (*labium destrum*) e izquierdo (*labium sinistrum*), dispuestos a ambos lados de aquél desde el cardias (HABEL, 1982; KRAHMER, 1982; Nómina Anatómica Veterinaria, 1983). Excepcionalmente, algunas especies rumiantes, como son las llamas y los camellos, sólo poseen un labio (BERGMAN y DUKES, 1926).

La zona reticular se encuentra dispuesta en forma de espiral de 180°, proyectando su luz (desde esófago hasta omaso): caudalmente, hacia la izquierda, cranealmente y termina en un rodete muscular cruzado (esfínter retículo-omasal). El canal omasal se dispone de forma inclinada, hacia atrás y hacia abajo, durante todo su trayecto (HABEL, 1982). La irrigación de la zona corre a cargo de las arterias Gastroepiploica izquierda, Reticular accesoria y ramas reticulares de la a. Gástrica izquierda y de la a. Reticular, procedente de la a. Ruminal izquierda (GOSHAL, 1982). De ella parten las arterias dorsal y ventral de la gotera reticular, que irrigan independientemente los dos labios (PASTEY y col., 1975-1976).

La inervación de todo el canal gástrico es bastante compleja y su estudio no está totalmente finalizado aunque se conoce perfectamente la existencia y localización de gran parte de los sistemas intrínseco y extrínseco que la componen.

El sistema intrínseco se fundamenta en la existencia del plexo subseroso, formado por los plexos de Auerbach y el de Meissner o submucoso. El primero se localiza en la capa externa de la musculatura lisa, a veces en la submucosa, y está formado por fibras dispuestas en abanico: controla la motilidad de las fibras

musculares lisas.

El plexo submucoso es el responsable de la sensibilidad de la zona. Se localiza en la capa submucosa, preferentemente del labio izquierdo del surco esofágico. Está compuesto por dos estructuras: red amielínica subpapilar y células ganglionares aisladas.

La existencia de capas musculares estriadas conlleva la aparición de placas motoras, expandidas y a veces lobulares, en las zonas donde existe este tipo de tejido. Se considera que estas placas forman parte del sistema motriz dependiente del plexo mioentérico que controla toda la estructura anatómica (PELAGALLI y col., 1974; PELAGALLI y col., 1975).

El sistema extrínseco corre a cargo de los troncos vagales, ventral y dorsal. El ventral proporciona ramas que se extienden por todo el retículo y algunas en particular se concentran en el labio izquierdo del surco esofágico. El labio derecho, sin embargo, se encuentra inervado principalmente por unas pequeñas ramas que parten del tronco dorsal del n. Vago a la altura del cuello del omaso (HABEL, 1982). Existen también algunas fibras parasimpáticas periarteriales que también parten independientemente para cada labio. Las fibras simpáticas sólo se extienden de forma paralela a las arterias (HARDING y LEEK, 1971; PASTEA y col., 1975-1976).

El sistema de inervación descrito es, en base, similar para todas las especies de rumiantes, si bien puede presentar ligeras modificaciones en cuanto a las formas de las terminaciones o fibras nerviosas.

II.1.1.2.- Histología.

La estructura histológica de la gotera esofágica comprende cuatro capas que colocadas hacia la luz son serosa, muscular, submucosa y mucosa.

La serosa es de tejido conjuntivo, principalmente fibras colágenas y elásticas, y se encuentra recubierta por el mesotelio, también de tejido conectivo.

La capa muscular es muy compleja, de origen mixto (liso y estriado) y difiere entre las distintas zonas de la estructura. En los labios el músculo es liso y sus fibras se disponen en sentido longitudinal, paralelas al eje principal de la estructura. Algunas de estas fibras se insertan lateralmente en la capa interna de la túnica muscular de la pared del retículo, fundiéndose con las fibras propias de esta zona. Otras, forman unas bandas musculares espesas que dan lugar a unas "asas" que delimitan los esfínteres: cardias y orificio retículo-omasal (éste, con fibras procedentes principalmente del labio izquierdo) (DELLMAN, 1976; ASARI y col., 1986).

En el suelo se distinguen dos capas musculares, externa e interna. La capa externa es longitudinal y se compone de fibras lisas y estriadas. Éstas se encuentran en mayor proporción en la zona próxima al esófago, en la zona media la proporción se iguala y en las proximidades del orificio retículo-omasal sólo perduran las fibras musculares lisas. La capa interna sólo se compone de tejido muscular liso cuyas fibras se disponen de forma perpendicular al eje longitudinal de la gotera (DELLMAN, 1976). Parte de las fibras internas se continúan con las de la capa externa de la muscular del retículo y las restantes se insertan en las fibras musculares longitudinales de los labios, por lo que algunos autores han denominado a esta capa como muscular circular (ASARI y col., 1986).

La túnica submucosa está constituida por fibras colágenas y elásticas de tejido conjuntivo, al igual que la lámina propia de la mucosa, con la que se encuentra íntimamente unida.

La capa mucosa está compuesta por un epitelio escamoso estratificado, una capa muscular de la mucosa y una lámina propia. Entre la muscular y el estrato granuloso del epitelio se encuentran las terminaciones nerviosas sensitivas, generalmente en forma de botón o de flecha, más abundantes en la zona del labio izquierdo (SCHENK-SABER y col., 1985). La muscular de la mucosa proviene de la muscular mucosae del esófago y sólo se extiende de forma continua en los labios (LEWIS, 1962).

El epitelio es oscuro y con pliegues longitudinales en los labios, y más claro y con pliegues y papilas córneas en el suelo. Los pliegues del suelo son 12 (raras veces más) y provienen del esófago (4-5) o de las láminas del omaso (10-11); de estos últimos, algunos se prolongan sólo hasta el cardias y otros se unen a los del esófago. Las papilas córneas son unguiliformes y se localizan entre y sobre los surcos cercanos al orificio retículo-omasal (KANO y col., 1988).

Hasta hace poco tiempo, se creía que esta mucosa era aglandular, pero hoy está demostrada la existencia de glándulas de tipo mucoso, principalmente en adultos, y de tipo seroso y mixto, casi exclusivas de prerrumiantes. Estas glándulas son pequeñas, de forma ovalada o redondeada, similares a las glándulas del esófago humano y bovino o a las del omaso de la cabra. Se localizan principalmente en la mitad del suelo, más próximas al orificio retículo-omasal, sobre éste y en el labio izquierdo. Profundizan hasta la submucosa y a veces hasta la capa muscular; sus conductos vierten a la luz de la gotera (MUTOH y WAKURI, 1988).

II.1.1.3.- Organogénesis e Histogénesis.

La aparición de la gotera reticular en los fetos de animales rumiantes tiene lugar de forma simultánea a la diferenciación de los esbozos de panza y reddecilla. El desarrollo y los movimientos de traslación y de rotación de estos compartimentos determinarán la forma y localización definitiva del surco esofágico, ya que ésta siempre recorre la mínima distancia (desde cardias a píloro), independientemente de las dilataciones que tienen lugar desde la fase de estómago fusiforme hasta la total compartimentación del mismo en el rumiante (MOLINARI y JORQUERA, 1988; VIVO y ROBINA, 1991 b).

Cuando el feto tiene una longitud de diámetro vertex-caudal (V.C.) de 1,4 cm en bóvidos y de 0,6 cm en óvidos, todavía poseen un primordio gástrico único, en forma de dilatación fusiforme con una curvatura dorsal convexa y otra ventral y cóncava. Esta estructura, gira sobre su eje longitudinal y seguidamente emite el esbozo único del retículo-rumen (V.C. = 1,5 cm en bóvidos). La zona del primordio gástrico inicial de donde se origina este esbozo queda delimitada por dos crestas longitudinales mesodérmicas, dorsal y ventral, situadas a la derecha del esbozo y que constituyen el esbozo de la gotera esofágica, junto con el del suelo, formado por el canal gástrico propiamente dicho y la parte craneal de la curvatura menor del primordio inicial (PANCHAMUKHI y col., 1975 a; MICHEL y col., 1980; VIVO y ROBINA, 1991 a).

Posteriormente, aparece el esbozo del omaso y, por último, el del abomaso (V.C. = 2,0 cm en bóvidos), quedando todos los esbozos alineados, por orden de formación y en situación caudal al esbozo del hígado. Con ellos se configuran también los labios omasales y el *sulcus omasi*, que posteriormente se definen completamente (V.C. = 2,2 cm). Los esbozos, antes de comenzar su desarrollo,

sufren una serie de desplazamientos: el rumen y el retículo giran para localizarse en posición dorsal e izquierda, el omaso, hacia la derecha y ventralmente y el abomaso hacia la parte izquierda. Tras un periodo de desarrollo y diferenciación, principalmente de los sacos ciegos y de los surcos y pilares del rumen, el cuajar se vuelve a desplazar para situarse en el lateral derecho, girando a la par sobre su propio eje transversal. Tras estos movimientos, el estómago pluricavitario queda dispuesto en su típica forma de herradura y sólo necesita de su diferenciación para tomar la forma definitiva en el neonato (MICHEL y col., 1980; MOLINARI y JORQUERA, 1988; VIVO y ROBINA, 1990).

Teniendo en cuenta que el surco reticular queda formado con anterioridad a las rotaciones de los esbozos, es de suponer que todos los movimientos descritos modifiquen la posición relativa del surco dentro del conjunto proventricular. Así, en un primer periodo (V.C.=5,0 cm), la gotera se encuentra inmersa en la pared reticular derecha, con los labios definidos, en dirección horizontal paralela al eje principal fetal y recta. Más adelante (V.C.=7,0 cm), tras las rotaciones descritas, toma dirección vertical formando un ángulo de 50° aproximadamente con el eje principal (hacia abajo y hacia atrás) y retorcida. Finalmente, resulta una estructura con una disposición en forma de espiral de 180° como ya se ha descrito (PANCHAMUKHI y col., 1975 b; VIVO y ROBINA, 1991 a). No está claro, sin embargo, el origen y conformación del surco omasal, que puede derivar, bien de aquel primordio inicial como proponen algunos autores (MICHEL y col., 1980), o de su parte opuesta, con lo que la gotera esofágica se continuaría a nivel del abomaso por los pilares de primer orden de su mucosa (KANO y col., 1988).

Las fases del desarrollo embriológico de estas estructuras parecen ser similares en todas las especies de rumiantes, con lógicas diferencias en cuanto a los diámetros del feto en el momento en que tienen lugar los distintos fenómenos y

ligeras variaciones en la precocidad de diferenciación del rumen y de la gotera en algunas especies, como es el caso del búfalo (PANCHAMUKHI y col, 1975 a y b).

En cuanto a la histiogénesis, los estudios realizados se basan fundamentalmente en grandes rumiantes y, dentro de ellos, en el búfalo como especie principal. Así mismo, la capa mucosa es la más atendida, ya que presenta una especificidad, unida íntimamente a la función de los distintos compartimentos.

La modificación epitelial comienza por la gotera reticular (V.C. = 50,5 cm), para extenderse desde ella al esófago y al resto de los proventrículos (PANCHAMUKHI y MUDHOLKAR, 1978). En los fetos bovinos de V.C. = 2,2 cm ya existe un epitelio embrionario temprano, en el que se diferencian las zonas superficial y basal entre los 3,2 cm (PANCHAMUKHI y SRIVASTAVA, 1982) y los 9 cm (OSMAN y BERG, 1982). Las formaciones de las mucosas de los distintos proventrículos aparecen entre los 6 y 50 cm de V.C.: hojas del omaso (6,2 cm), pliegues del cuajar (10,5 cm), crestas de la redecilla (29,5 cm) y vellosidades del rumen (46 cm) (MICHEL y col., 1980). La aparición de las modificaciones de la mucosa de la gotera reticular no está del todo clara y puede ser en una fase, a los 27 cm de V.C. (OSMAN y BERG, 1982) o en dos fases: una evaginación de la zona basal del suelo para originar un pliegue longitudinal (10,5 cm de V.C.) y otra evaginación en la zona basal de los labios que da lugar a las papilas (25,5 cm) (PANCHAMUKHI y SRIVASTAVA, 1982). A los 73 cm de V.C. se produce la diferenciación de la capa muscular de la mucosa y la capa epitelial se diferencia a partir de la basal, originando los estratos espinoso, granuloso y córneo (PANCHAMUKHI y MUDHOLKAR, 1978; OSMAN y BERG, 1982). El epitelio de la gotera reticular parece ser el primero, dentro de los revestimientos proventriculares en queratinizarse, a los 50,5 cm de V.C. (PANCHAMUKHI y SRIVASTAVA, 1982).

II.1.1.4.- Fisiología.

Las funciones de la gotera reticular son fundamentalmente dos: motora y secretora. La primera tiene una gran importancia en el conjunto de la fisiología digestiva, mientras la acción de secreción conocida no tiene más objeto que el de lubricar y facilitar el transcurso de las ingestas por esta estructura (MUTOH y WAKURI, 1988).

La motilidad de la gotera se produce por la contracción de las fibras lisas y estriadas de su capa muscular. Según Borgatti (1956), esta contracción tiene su origen en el esfínter omasal y se propaga por los labios de la gotera, el retículo y el atrio ruminal hasta los sacos dorsal y ventral del rumen (SEREN, 1975). Macroscópicamente, esto se traduce en dos movimientos: uno de acortamiento y firme aposición de los labios y otro de inversión de los mismos con giro alrededor del eje que discurre por la longitudinal del labio derecho (COMLINE y TITCHEN, 1951). Mediante este último, el surco se transforma en canal y permite el transcurso de contenido a su través. Cuando sólo se produce el primer movimiento, tan sólo el 30-40% del líquido ingerido se dirige a abomaso; si, además, se produce el movimiento de aproximación e inversión de los labios, el 75-90% del líquido pasa a través de la gotera (RUCKEBUSCH y KAY, 1971).

Los movimientos macroscópicos en el bóvido adulto tienen lugar en número de 3000 a 4000 por día (RUCKEBUSCH, 1979). Son bifásicos y duran de 20 a 55 segundos. Sus registros tienen forma de altiplanicies con 3 ó 4 contracciones y periodos de relajación entre ellas de 20 a 60 segundos, según Borgatti y Matcher (HEGLAND y col., 1957; SEREN, 1975).

Para que la ingesta transcurra directamente de esófago a abomaso, no basta

solamente la contracción de la gotera, por lo que este movimiento macroscópico descrito suele ir acompañado de otras actividades motoras del sistema digestivo. La ingesta se acumula en el esófago caudal dando lugar a la "ampolla frénica" que, tras un movimiento de eversión de la mucosa esofágica hacia la gotera, pasa a ésta de forma violenta y rítmica (0,5 s), acompasada con el diafragma. Entonces, el líquido pasa a través de la gotera contraída y del orificio retículo-omasal (que ha de encontrarse abierto) y del surco omasal al abomaso (NEWHOOK y TITCHEN, 1970).

Se ha estudiado la motilidad de las fibras musculares lisas que componen el suelo de la gotera, encontrándose dos tipos de contracciones: unas de poca tensión y otras de fuerza de contracción mucho mayor. La frecuencia de las últimas oscila entre 1,05 y 1,80 contracciones/min, siendo mayor en animales adultos que en jóvenes, lo que confirma la mayor lentitud del tránsito a través del canal gástrico en los últimos (KOPER y MUCHA, 1983). La tensión varía de $2,83 \times 10^{-2}$ N en terneras a $2,14 \times 10^{-2}$ N en adultos. Todas las contracciones se caracterizan por una morfología típica, con un tiempo corto de contracción y un tiempo de 2 a 4 veces mayor de relajación (ENCINAS y col., 1989). La existencia de esta gran actividad espontánea se refleja en el elevado nivel de colinesterasa en la zona (BEGHELLI y col., 1975).

El cierre de la gotera esofágica no está totalmente identificado con sus movimientos y contracciones. Algunos autores hablan de varios estados del surco: abierto, cerrado, parcialmente abierto y cerrado lánguidamente. Así, la estructura, a pesar de presentar contracción de su pared, se puede encontrar en estado parcialmente abierto y de la misma manera, se puede encontrar formando un canal a pesar de tener sus fibras totalmente relajadas. Del mismo modo, el patrón de reacción de la gotera no es uniforme en el tiempo, por lo que ha sido dividido en

3 fases, que pueden tomar todas las combinaciones posibles de los estados abierto y cerrado, excepto el patrón cerrado-cerrado-abierto, que no ha sido descrito en ninguna ocasión (GUILHERMET y col., 1975; WISE y col., 1984). En cualquier caso, cuando la gotera se encuentra cerrada de forma efectiva, la fuerza de cierre es tal que permite el paso a su través de cápsulas de hasta 1,58 cm de diámetro y 4,12 cm de longitud (HEGLAND y col., 1957).

La integración de este movimiento en el conjunto de la motilidad proventricular tiene lugar de forma que en cada ciclo motor, durante la ingestión normal, se suceden dos contracciones de la gotera, y tres en los períodos de rumia (RUCKEBUSCH, 1977). Ello provoca una serie de cambios en la motilidad normal, como son la desaparición de los ciclos rumino-reticulares, que vuelven a aparecer (en forma monofásica y con menor fuerza a los 3-5 min) o el aumento de frecuencia en la motilidad reticular, que se manifiesta en descargas aisladas con poca fuerza sobre una contracción parcial mantenida (KAY y col., 1972). La inhibición de las contracciones reticulorruminales tiene lugar en dos fases: una cefálica o inotrópica, de inhibición reticular que tiene lugar durante la succión; en ella disminuye la intensidad de las contracciones aunque aumenta su frecuencia; y otra, cronotrópica o abomasal, que tiene lugar después de la succión, en la que disminuye la frecuencia y se mantiene la intensidad de las contracciones (RUCKEBUSCH y KAY, 1971; RUCKEBUSCH, 1979; RUCKEBUSCH, 1983). Ambos movimientos vuelven a la normalidad de forma gradual tras el cese de motilidad del surco esofágico (TSIAMITAS y BRIKAS, 1981). Hay que señalar también la coincidencia en el tiempo del cierre de la gotera con el del orificio retículo-omasal (WISE y col., 1984). Esta coordinación de movimientos se produce también durante la eructación y durante la mezcla en reticulorrumen, ya que todos ellos están asociados eléctricamente. El significado funcional de la inhibición motora puede ser la prevención de interferencias que restarían eficacia al movimiento principal

(RUCKEBUSCH y KAY, 1971).

Por otra parte, cuando se produce el cierre de la gotera y la ingesta progresa por ella y alcanza el abomaso, en un periodo de 1 a 15 min, puede detectarse su llegada a duodeno. Ello provoca la inmediata reacción motora y secretora del intestino, detectable por el aumento del pH. En caso de no verificarse el cierre, este aumento tarda entre 5 y 5 1/2 h en aparecer (KAY y col., 1972).

Todo este mecanismo de motilidad está regulado por un mecanismo reflejo que fue estudiado por Comline y Titchen sobre óvidos y bóvidos jóvenes descerebrados. La vía aferente de dicho reflejo la constituyen los cabos centrales de los nervios laríngeos superiores (n. Trigémino), reforzados por aferencias corticales. La vía eferente está constituida por las fibras parasimpáticas colinérgicas del nervio Vago abdominal dorsal que abordan el surco y la rama ventral de este mismo nervio, aunque ésta, en menor proporción. Este reflejo comparte vía aferente con el de deglución, al que se encuentra íntimamente ligado, a pesar de constituir actos totalmente independientes. Así, se puede inhibir el reflejo de cierre de la gotera, y no el de deglución, por estimulación del cabo central de la rama abomasal del nervio Vago abdominal ventral. Existen también diferencias en cuanto a la respuesta a estímulos, que resulta de tipo subliminal para el reflejo de deglución pero son eficaces en el de cierre de la gotera (COMLINE y TITCHEN, 1962; RUCKEBUSCH, 1977). El reflejo de la gotera puede inhibirse además por otros mecanismos: estimulación de la rama dorsal del nervio glossofaríngeo, estimulación de los nervios esplácnicos o administración endovenosa de adrenalina o noradrenalina, a pesar de no haber encontrado inervación simpática directa. Así mismo, se puede conseguir una contracción mantenida, sin pérdida de reacción a los estímulos laríngeos, mediante la sección de los nervios esplácnicos (COMLINE y TITCHEN, 1951).

Este mecanismo reflejo posee algunas propiedades como son: respuesta a la "ley del todo o nada" (HEDDE y WARD, 1973), sumación de estímulos subliminales, fatiga, latencia refleja, postdescarga e inhibición (COMLINE y TITCHEN, 1962).

Las estructuras que hacen posible la existencia de este reflejo son las fibras sensibles de la red amielínica, que puede terminar en expansiones con arabescos o en corpúsculos de Ruffini, bien simples o ultraexpansivos (de formas libres o tipo Ruffini) (PELAGALLI y col., 1974; PELAGALLI y col., 1975; HABEL, 1982). Filotto, Negri y Miraval, en 1956, ya pusieron de manifiesto la existencia de estos corpúsculos, no sólo en la gotera esofágica, sino también en el píloro y los orificios omaso-abomasal y retículo-omasal (SEREN, 1975). Posteriormente, se ha demostrado la existencia de mecano-receptores vagales, dispersos en todo el tracto digestivo (ovejas) y muy concentrados en la gotera esofágica. Estos receptores son del tipo de adaptación lenta, rara vez de actividad espontánea y se continúan con fibras no medulares de velocidad media de conducción de 1,3 m/s (FALEMPIN y col., 1978).

La parte efectora está llevada a cabo por la inervación vagal, cuyo predominio sobre el simpático en la zona se desprende de la distribución y de la actividad de la colinesterasa y la monoamino-oxidasa; ambos parámetros son mayores para la primera enzima ($67,3 \pm 17,1$ ml $\text{Co}_2/\text{g}/\text{min}$) que para la segunda ($9,06 \pm 2,6$ ml $\text{O}_2/\text{g}/\text{min}$) (BEGHELLI y col., 1975). De igual forma, la total inhibición del reflejo de cierre tras la vagotomía cervical y abdominal, indican la implicación de esta vía en el proceso (NEWHOOK y TITCHEN, 1974).

Las ramas vagales, cuya disposición en la gotera ya se ha descrito, forman una densa trama en forma de red en la que se pueden encontrar tres tipos de

formaciones: fibras largas, ganglios pequeños con ramificaciones y células aisladas. Los dos últimos se encuentran en mayor proporción en la zona central de los labios de la gotera (PELAGALLI y col., 1974; PELAGALLI y col., 1975). Se han encontrado dos tipos de células ganglionares, con y sin terminaciones vagas en el conjunto de los proventrículos. Las más importantes son las que poseen terminaciones, y se encuentran distribuidas con mayor densidad en la llamada "área central" (la más activa y susceptible a la estimulación vagal y ganglionar) donde se encuentra la gotera (MORRISON y HABEL, 1964).

La noradrenalina también tiene acción sobre la motilidad de la gotera a través de un mecanismo colinérgico. Esta acción se comprueba por la inhibición, mediante administración endovenosa de clonidina (agonista α_2), de la contracción producida por sales de sulfato cúprico, que puede ser prevenida mediante idazoxán (antagonista α_2) (NICHOLSON y BELKHIRI, 1991).

En los trabajos realizados "in vivo", las administraciones endovenosas de hexametonio (8-10 mg/kg) y de atropina (200-800 ug/kg) inhibieron total y parcialmente el reflejo, respectivamente. Sin embargo, la adrenalina (5-40 μ g/kg, e.v.) no producía este efecto (NEWHOOK y TITCHEN, 1974).

La existencia de receptores colinérgicos y adrenérgicos en la musculatura del suelo de la gotera ya fue apuntada anteriormente en un estudio preliminar in vitro (ENCINAS, 1987).

Posteriormente, en estudios "in vitro", se ha comprobado que la adrenalina y la noradrenalina tienen un efecto estimulante sobre la musculatura lisa, tanto del suelo como de los labios, de la gotera. Esta contracción se inhibe por acción de prazosín, yohimbina y atropina, pero no por TTX, de lo que se deduce que el

bloqueo de la atropina es inespecífico y que existen ambos tipos de receptores, con una mayor densidad de receptores α_1 (estimulantes de la contracción) que β (relajantes) (OERTLE, 1988, DENAC y col, 1990; DENAC y col, 1991).

La actividad de sustancias opioídes y que actúan sobre receptores GABA no ha sido demostrada en la gotera reticular. Sin embargo, dada la evidencia de su papel en la motilidad de otras estructuras de los proventrículos, es de suponer que también tengan efecto sobre esta estructura (RUCKEBUSCH y SOLDANI, 1986; BRIKAS, 1992).

Se han realizado trabajos in vitro sobre estimulación de musculatura lisa de gotera con concentraciones elevadas de potasio en el medio, con fenilefrina y mediante estimulación eléctrica transmural. Todos ellos producían respuestas contráctiles de la fibra muscular lisa del suelo de la gotera, de distintas características (LOPEZ, 1992; SAN ANDRES, 1992).

Se realizaron experimentos de incubación con verapamil, nitroprusiato sódico, TTX, cafeína y en medios libres de calcio. De los resultados obtenidos se desprende la importancia de la influencia del calcio extracelular y de la capacidad de almacenamiento de calcio en los depósitos intracelulares que confieren a este tejido caracteres semejantes a los de la musculatura estriada (SAN ANDRES, 1992).

Las placas motoras también intervienen en la regulación de la función motora de la gotera, ya que ésta contiene fibras musculares estriadas en su pared.

A pesar de que las estructuras descritas, por sí solas, son capaces de producir la contracción de las fibras musculares que componen la gotera esofágica, no lo son de provocar el tránsito de la digesta a través de la estructura. Así, Duncan, en 1953,

demostró que la motilidad, no sólo del surco reticular, sino de la totalidad de los proventrículos, no se podía anular con una simple vagotomía (SEREN, 1975).

Además del reflejo bucofaríngeo de origen vagal, existe una componente psíquica determinante, en forma de reflejo condicionado, que es capaz de reproducir por sí mismo, el cierre de la gotera (PHILLIPSON, 1946; ORSKOV, 1975; PARAGON y HACHET, 1980; ORSKOV, 1988).

De forma paralela a la red descrita del sistema nervioso, existen diversos nervios inmunorreactivos, estimulados por péptidos neurotransmisores de acción muy localizada que, parece ser, desempeñan un papel importante en la regulación del estado de la gotera, aunque todavía se desconoce el mecanismo y la magnitud de la acción de estas estructuras en la motilidad. Todos ellos tienen características comunes: la mayor densidad en gotera que en el resto del retículo-rumen; la localización primordial, dentro del surco reticular, en los labios y su mayor proliferación en terneros que en adultos. Así, los agonistas muscarínicos son capaces de reforzar el cierre en animales jóvenes y las drogas anticolinérgicas y estimulantes adrenérgicas, de reducir su porcentaje de eficacia. La Dopamina provoca una inhibición de las contracciones tanto de la gotera como del retículo-rumen que puede ser suprimida por administración de Metoclopramida. Todo ello sugiere un control de la gotera mediante receptores inhibidores y excitadores de Dopamina, mediados quizás por el sistema purinérgico (RUCKEBUSCH, 1983).

Los nervios inmunorreactivos al Met-enk-8 (Metionin-enkefalín-Arg6-Gly7-Leu8) se extienden por el suelo, en forma de fibras. En los labios, presentan cuerpos, ganglios (formados por 1 ó 2 cuerpos) y fibras, inmersos en la musculatura lisa. Las últimas, muy densas, se localizan también alrededor de la misma. Estos nervios son también muy frecuentes en el orificio

retículo-omasal (KITAMURA y col., 1987). Otros nervios inmunorreactivos encontrados en gotera, en orden decreciente de densidad, son: SP-IR (nervios inmunoreactivos a la sustancia P), VIP-IR (nervios inmunoreactivos a péptidos vasoactivos), LENK-IR (nervios inmunoreactivos a la leucina-enkefalina), SOM-IR (nervios inmunoreactivos a la somatostatina) y GRP-IR (nervios inmunoreactivos al polipéptido gástrico liberador) (KITAMURA y col., 1986).

Existen una serie de factores que pueden alterar tanto la capacidad de los animales para cerrar la gotera como las características del reflejo cuando éste se produce (FIGURA II.2). En primer lugar, hay que destacar que existe una incidencia muy variable en cuanto a la motilidad del surco dentro de animales de una misma especie, de una misma raza, e incluso dentro de un mismo individuo (GUILHERMET y col., 1975; WISE y col., 1984).

El principal factor que se considera afecta a la facultad de los rumiantes para cerrar la gotera es la edad. Hay autores que consideran independiente el cierre de la gotera de la edad (ORSKOV, 1975; GUILHERMET y col., 1975). Sin embargo, la mayoría de los trabajos apuntan lo contrario: el mecanismo reflejo deja de tener lugar de forma espontánea a partir de determinada edad, aunque los rumiantes adultos mantienen la capacidad y pueden cerrar la estructura siempre que sean provocados mediante estímulos específicos.

La edad del animal en que tiene lugar este cambio en el reflejo, de espontáneo a provocado, varía para los distintos autores desde 6 semanas (ABE y col., 1978; SILVA y CAMPO, 1986), 4 meses (RUCKEBUSCH, 1977) a 20 meses (HEGLAND y col., 1957) en bóvidos; otros autores no determinan tiempo exacto y centran el hecho en el primer año de vida (McEWAN y OAKLEY, 1978). Todos ellos coinciden en no asociar este hecho directamente a la edad absoluta del

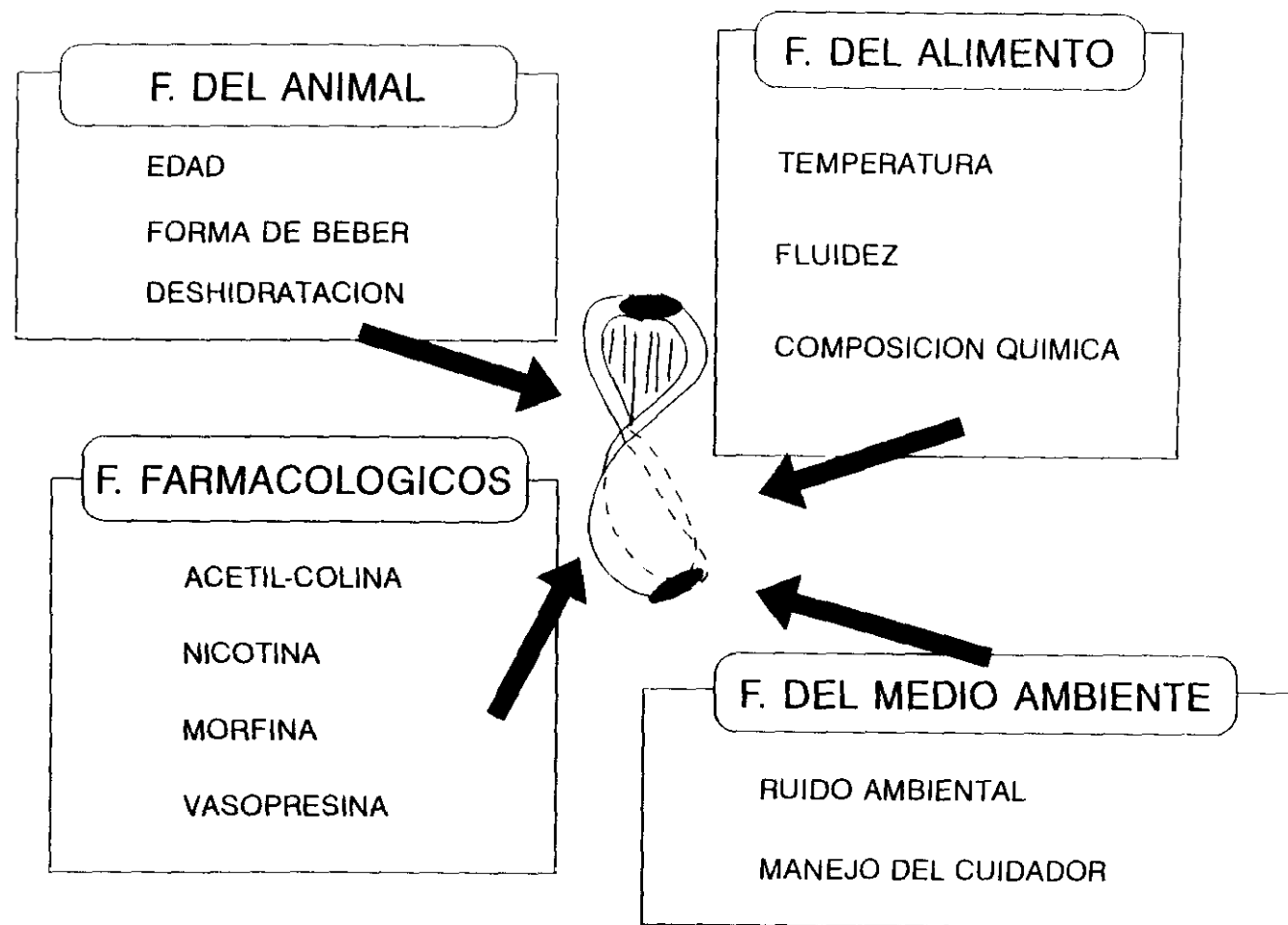


FIGURA II.2.- Principales factores implicados en la aparición del reflejo de cierre de la gotera reticular.

individuo sino al desarrollo de su estómago, que a su vez está relacionado con sus hábitos alimentarios.

El paso de "prerrumiante" a "rumiante" no está claramente delimitado en los animales de estómago pluricavitario; tal cambio consiste en un desarrollo del reticulorumen mayor, en proporción, al del omaso y abomaso. Esta transformación se produce paulatinamente en los rumiantes desde el nacimiento y está encaminada a adaptar el aparato digestivo para el aprovechamiento de los alimentos que ingieren estas especies (HABEL, 1982). Los cambios se producen a la par que la paulatina transformación del alimento líquido en sólido, de forma que, cuando la dieta del animal es en su totalidad de tipo sólido y los proventrículos están totalmente desarrollados, se hace necesario el concurso del reticulorumen para digerir y aprovechar los alimentos, y el cierre de la gotera deja de producirse de manera espontánea (WISE y col., 1984; SILVA y CAMPOS, 1986). Sin embargo, el aporte ocasional de leche intrarruminalmente a terneros prerrumiantes no altera el porcentaje de cierre de la gotera ni la ingestión del alimento (NUNES DO PRADO y col., 1987), aunque sí se observa una deficiencia en el desarrollo de los corderos (LAWLOR y col., 1971 a; LAWLOR y col., 1971 b).

Pastea y col. (1977-1978) resumieron sus observaciones a este respecto afirmando que existen dos estados de la gotera esofágica: uno activo, propio del animal neonato y otro adaptativo, propio del animal adulto.

La naturaleza química del alimento puede variar la incidencia del cierre; alimentos ricos en proteínas de leche, soja y pescado, y los componentes del suero de la leche, principalmente los iones, son algunos de los compuestos que favorecen el reflejo (SILVA y CAMPOS, 1986). Para otros autores, el reflejo es independiente de la naturaleza química del alimento (HEGLAND y col., 1957; ORSKOV y

BENZIE, 1969 a; ORSKOV y BENZIE, 1969 b, ORSKOV y col., 1970 a; GUILHERMET y col., 1975; PARAGON y HACHET, 1980).

La forma de administrar los alimentos líquidos es otro de los factores a estudiar; el biberón frente al cubo, como medio para proporcionar los líquidos a los rumiantes jóvenes han sido utilizados para diferenciar la succión de la sorción, respectivamente. La incidencia en el cierre de la gotera, para algunos autores, es mayor en los animales que ingieren el alimento por succión (mediante biberón) que en los que lo hacen por sorción (MILLER y col., 1969; ORSKOV y col., 1970 a; ABE y col., 1978; DUKES, 1983; SILVA y CAMPOS, 1986). El porcentaje de caída del alimento al rumen (no hay cierre del surco) es de 17,5% en los animales que succionan frente al 95% en los animales que sorben (WISE y col., 1984).

Otros autores defienden que el procedimiento de ingestión no influye en el cierre de la gotera siempre que los animales se hayan entrenado al método escogido durante un tiempo que oscila entre una semana (ABE y col., 1979) y toda la vida (ORSKOV y BENZIE, 1969 a y b; ORSKOV, 1975; ORSKOV, 1988). Sí resulta importante que el animal no llegue a salivar y masticar para deglutir, ya que, en caso de hacerlo, el reflejo no se produce (ORSKOV, 1975). El método ideal para la realización de posteriores estudios es aquel que se adopta tras el destete para seguir administrando leche y que ha de recordarse periódicamente. Los estímulos son de tipo visual y quizás también olfativos o/y auditivos, y desencadenan un reflejo condicionado cuyo efecto es el cierre del surco reticular, que se manifiesta por el entusiasmo demostrado por el animal al beber (HEGLAND y col., 1957; ORSKOV y col., 1970 a). La única diferencia en el cierre de la gotera cuando se utiliza uno u otro método se encuentra en el momento en que comienzan las ondas peristálticas del esófago que impulsan las ingestas hacia la estructura reticular (KAY y col., 1972).

La naturaleza física del alimento (líquido/sólido) puede influir también en la capacidad de cierre. Se precisa un porcentaje mínimo de agua en el volumen total a ingerir para que aquel pueda tener lugar; el alimento sólido reduce en un 12-13% la capacidad de cierre de esta estructura (HEGLAND y col., 1957; LAWLOR y col., 1971 b).

La sed y el apetito también pueden favorecer el cierre de la gotera, principalmente por aumentar la avidez de ingestión e intensificar los fenómenos desencadenantes del reflejo (GUILHERMET y col., 1975; WISE y col., 1984; BRUGÉRE y col., 1987 a; BRUGÉRE y col., 1987 b). De igual forma, el gusto y el olfato pueden influir en el cierre por su acción sobre la avidez y el ansia de ingerir (PHILLIPSON, 1946).

También intervienen en el proceso reflejos condicionados, provocados por el aumento del volumen ruminal o por la percepción de la madre o del biberón (GUILHERMET y col., 1975). El manejo de los animales por parte de los cuidadores afecta, en el cierre de la gotera, al tratar a los animales en grupo frente al cuidado individual. El manejo actúa tanto por condicionamiento del reflejo (ORSKOV, 1988), como por disminución del 24-25% de la aparición del arco reflejo (LAWLOR y col., 1971 a; LAWLOR y col., 1971 b).

Así pues, el cierre del surco reticular es un mecanismo complejo en el que participan numerosos factores, controlado por un mecanismo reflejo de componente orofaríngeo principal, pero con intervención de otro tipo de fenómenos condicionados o no (RUCKEBUSCH y KAY, 1971).

II.1.1.5.- Patología.

Los casos patológicos relacionados con el surco reticular, descritos hasta el momento, se pueden dividir en dos grupos: los dependientes y los independientes de la funcionalidad de la gotera (BRUGÉRE y col., 1987 a). La gotera también se puede encontrar afectada en procesos digestivos o generales de igual forma que lo están las estructuras que la circundan.

Dentro de los independientes se ha descrito la existencia de un fibropapiloma, de aparición relativamente frecuente, que también puede aparecer en esófago y en rumen y que afecta a los fibroblastos subepiteliales y a la lámina escamosa del epitelio. Aunque no se han encontrado formas vegetativas del mismo, se cree que el agente productor es el virus del papiloma bovino tipo 2 (BPV-2) (JARRET y col., 1984). Macroscópicamente aparece en forma múltiple, como pequeños nódulos separados (0,5-1 cm de diámetro) o formando una placa (30 cm de diámetro), con los bordes enrojecidos y raramente ulcerado. Histológicamente es similar al fibropapiloma cutáneo y no produce cambios citopatológicos evidentes en la capa de células subqueratinizadas.

Los estados patológicos derivados del estado fisiológico de la gotera se pueden presentar en dos situaciones: el fallo del cierre del surco en terneros y el cierre mantenido del mismo en adultos.

En el primer caso (ausencia de reflejo de cierre en animales en estado prerrumiante) se ha dado la denominación de "ruminal drinkers" (DE VISSER y BREUKINK, 1984) o de "chronic ruminal drinking" (VAN WEEREN-KEVERLING BUISMAN y col., 1986; VAN WEEREN-KEVERLING BUISMAN y col., 1988), traducido al castellano como "beber en el rumen" (DIRKSEN, 1989), a los animales

afectados y el nombre de "síndrome de malajuste", al proceso en sí (LAWLOR y KEALY, 1971). Las causas principales son la inexistencia de las condiciones fundamentales para que se cierre la gotera: ausencia de estímulo de los reflejos bucofaríngeos (abscesos zonales o faringitis), olores o sabores repelentes, no beber a pequeños sorbos y con tranquilidad (stress del transporte) (DIRKSEN y DIRR, 1989; DIRKSEN, 1989).

Algunos autores consideran que el cuadro se identifica con diarreas neonatales en las que el fallo del cierre de la gotera es un síntoma concomitante (aparecen juntos en un 11,2-25% de los casos, dependiendo del autor) o una consecuencia del cuadro principal (DIRKSEN, 1989; DIRR y DIRKSEN, 1989).

En cualquiera de los casos, la aparición conjunta de ambos procesos es fatal y suele terminar con la muerte del animal o desemboca en otros desórdenes gastrointestinales graves (DIRKSEN y DIRR, 1989).

El cuadro cursa con apetito irregular, pelo largo y seco, pica con lameteo del box y del resto de los animales, timpanismo recurrente, distensión abdominal, heces arcillosas (secas y claras), desnutrición y retraso en el crecimiento (VAN WEEREN-KEVERLING BUISMAN y col., 1986).

El proceso puede evolucionar a una acidosis crónica latente, tomando las heces un color amarillento, o hacia una putrefacción ruminal, con heces gris oscuro y olor nauseabundo (DIRKSEN, 1989). Las fermentaciones ruminales que tienen lugar durante este proceso pueden ser de cuatro tipos: predominantemente butírica, predominantemente láctica o bifásicas, primero butírica y luego láctica o viceversa (DIRR y DIRKSEN, 1989; DIRKSEN y DIRR, 1989).

Como consecuencia de la caída de la leche al rumen, además, se puede detectar una atrofia hiperplásica vellosa y acortamiento de las criptas en intestino delgado, hiper-paraqueratosis ruminal o disqueratosis en caso de acidosis latente, y ausencia de cuajos de caseína en rumen (BREUKINK y col., 1988; DIRKSEN, 1989).

Además, el aprovechamiento del calostro es menor y la concentración plasmática de gamma-globulinas es significativamente más pequeña que en terneros con gotera funcional (ZAREMBA, 1983), por lo que el animal se encuentra con menos defensas frente a posibles enfermedades concomitantes.

El tratamiento consiste en lavado ruminal, restauración del reflejo de cierre (mediante administración de leche con biberón), y fraccionamiento del agua de bebida (VAN WEEREN-KEVERLING BUISMAN y col., 1986). Con esto se consigue un aumento en la longitud de las vellosidades sin alterar la profundidad de las criptas, aumento en el número de mitosis y ganancia de peso del animal, aunque no se alcanza la recuperación del retraso en el crecimiento (VAN WEEREN-KEVERLING BUISMAN y col., 1988; BREUKINK y col., 1988).

Sin embargo, la administración ocasional de leche directamente en rumen a terneros prerrumiantes, no provoca estas alteraciones descritas, aunque sí se observan disminución del pH ruminal y aumento de la concentración de ácidos grasos volátiles en rumen (NUNES DO PRADO y col., 1987).

Para el estudio de este cuadro patológico se ha creado un modelo experimental de reproducción del mismo, que consiste en la administración de sustitutivos lácteos mediante fistula ruminal. La recuperación se consigue en 3-4 semanas, una vez suspendida la administración (VAN WEEREN-KEVERLING

BUISMAN y col., 1990).

Por otra parte, los animales adultos que mantienen durante un tiempo prolongado la gotera en forma activa, presentan atrofia en las vellosidades del rumen, con disminución del peso de los tejidos retículo-ruminales y omasales y aumento de los mismos a nivel de abomaso e intestino delgado, donde aumenta la digestión de almidón. También se aprecian alteraciones reparables en su mucosa como consecuencia de la ausencia de fermentación ruminal (ABE y col., 1978).

II.1.2.- Intervención en la digestión y la nutrición.

Los procesos de desarrollo de los rumiantes, a nivel de su aparato digestivo, conllevan cambios morfológicos, histológicos y funcionales que determinan el paso de los animales del estado prerrumiante al de rumiante. Cuando la gotera reticular, después de este momento, se cierra por un periodo de tiempo, el sistema digestivo vuelve a funcionar como en los momentos juveniles acarreado procesos digestivos distintos a los del animal adulto. Si esta situación perdura poco tiempo, los cambios no trascienden, pero su mantenimiento durante un periodo considerable puede influir en la morfología, desarrollo y nutrición del animal.

Así, cuando un animal adulto se mantiene durante casi tres meses con alimentación líquida vía gotera, se pueden observar cambios en el desarrollo y en la especialización normales de los tejidos, frente a controles de las mismas características alimentados con raciones similares vía rumen. El porcentaje de peso de los distintos compartimentos gástricos varía ostensiblemente en los animales que cierran la gotera: disminuyen los de reticulorumen y omaso y aumenta el de abomaso, mientras, en los individuos alimentados con dieta sólida experimentan sólo ligeros cambios.

Además, el desarrollo del intestino delgado y sus vellosidades es mayor y disminuye el número y tamaño de las papilas ruminales en los animales que experimentan el by-pass ruminal frente a aquellos en los que el alimento se dirige al rumen (ABE y col., 1977).

Con el desarrollo del reticulorumen, este compartimento toma una importancia enorme en los procesos digestivos y en la nutrición del rumiante. Sus procesos mecánicos, bioquímicos, microbiológicos, de absorción y de secreción

determinan el particular proceso nutritivo de estas especies. El cierre de la gotera reticular, proporciona el acceso directo de los alimentos a abomaso; estas sustancias ya no sufren la transformación de los hidratos de carbono en ácidos grasos volátiles y su posterior absorción en rumen, la degradación de las proteínas vegetales por los microorganismos y la posterior elaboración de proteínas animales, la síntesis de estos mismos microorganismos de vitaminas, ...(ORSKOV, 1969).

El resultado de todo ello es que, con el cierre del surco reticular, se aumenta el índice de utilización de las proteínas en un 27% a la par que disminuye la degradación proteica ruminal y se registra un aumento postprandial de la glucemia (ROBINSON y col., 1977 a; ROBINSON y col., 1977b).

Algunos de los parámetros típicos en nutrición no se ven alterados al administrar la dieta normal vía gotera como los niveles de glucosa plasmática (excepto el pico postprandial) o la concentración de riboflavina en plasma e hígado. Otros, pueden aumentar o disminuir, dependiendo del individuo.

Las concentraciones plasmáticas de glucógeno y cuerpos cetónicos decrecen, mientras aumentan las de triglicéridos y fosfolípidos y los lípidos totales en hígado (triglicéridos, colesterol, ácidos grasos, ...). El amoníaco en el intestino delgado disminuye, aunque mantiene su concentración en rumen. La proporción de ácido acético crece y las de butírico e isobutírico decrecen, dentro del total de ácidos grasos volátiles ruminales que, en conjunto, se encuentran disminuídos. Estos tres últimos parámetros se comportan de forma totalmente opuesta a nivel del intestino delgado (ABE y col., 1978).

Por ello, su aplicación en el aprovechamiento de los hidratos de carbono es muy limitada, ya que, aunque evita su descomposición, presenta una absorción en

intestino delgado muy pobre. Sí resulta interesante en lo que se refiere a la administración de lactosa ya que, al aprovecharse en mayor proporción, disminuye la cantidad de alimento ingerido, no alterando la tasa de crecimiento ni la relación de conversión y aporta un beneficio económico interesante.

Con los lípidos, su eficacia es mayor, ya que se absorben bien en intestino y, al no caer a rumen, no reducen la ingestión de alimento; el factor económico limita en este caso el uso de la gotera en nutrición (ORSKOV, 1972). Sólo en el caso del colesterol, podría estar justificada esta práctica: su administración con leche evita la degradación ruminal y logra aumentar la absorción y el aprovechamiento del mismo (WRENN y col., 1980).

El hecho de evitar el tratamiento previo de las proteínas por los microorganismos y las fermentaciones del rumen, hace pensar que el aprovechamiento de los suplementos proteicos sera mayor cuando salven el rumen por medio del cierre de la gotera reticular. De aquí deriva su uso en corderos y terneros destetados tempranamente (ORSKOV, 1977, ORSKOV, 1990).

Esta práctica resulta difícil con suplementos sólidos ya que éstos raramente activan el reflejo de cierre (MORGAN, 1978; ORSKOV y FRASER, 1972). No parece tan clara la acción beneficiosa del by-pass ruminal frente a la administración clásica de los suplementos, mezclados con la ración basal, ya que, para algunos autores, ni el peso del animal ni el nitrógeno retenido experimentan aumentos significativos, aunque sí se registran en los niveles plasmáticos de nitrógeno ureico, que son, además, más tardíos (ROBINSON y col., 1977 b; WADLEIGH y MOWAT, 1978).

Mientras, otros autores detectan aumento en la retención y excreción fecal

de nitrógeno, disminución en su excreción urinaria y aumento del peso vivo, así como un incremento de la producción láctea del 5 % y de la proteína láctea entre 10 y 20,12 % (índice de conversión de proteína láctea, 35-63 %) (ORKSOV y col., 1970 b; ORSKOV, 1975; STANDAERT y col., 1978; HUBER y col., 1982). Esto último explica su posible aplicación en la nutrición de vacas de elevada producción láctea (ORSKOV y col, 1973; ORSKOV, 1977).

En cuanto a la administración de urea o nitrógeno no proteico, no se recomienda esta práctica ya que, a pesar de producirse un ligero aumento de la tasa de crecimiento, disminuye la relación de conversión y aumenta la toma de alimento, lo que hace antieconómico el cierre de la gotera (ORSKOV y col., 1973).

La importancia de la funcionalidad de la gotera esofágica es mayor durante el periodo de lactación y durante el destete, aunque se ha demostrado que el mantenimiento del reflejo durante o tras el destete no influye en la ganancia de peso del animal (ORSKOV, 1973; BUSH y NICHOLSON, 1986).

En terneros lactantes, el cierre de la gotera parece imprescindible para la formación del cuajo en el abomaso y el completo aprovechamiento de este alimento.

Mayor importancia podría tener aún en los primeros momentos de vida, en los que la leche aporta las inmunoglobulinas G maternas que proporcionan al neonato la inmunidad pasiva necesaria para que haga frente al mundo exterior en sus primeras semanas de vida (RUCKEBUSCH y col., 1991). Sin embargo, la propia configuración del estómago en estos periodos hace posible obtener la óptima inmunidad pasiva en terneros aunque el calostro se administre con sonda esofágica y se dirija a rumen.

El porcentaje de inmunoglobulina G absorbida en intestino delgado es similar cuando se administra por sonda que por biberón, en las 12 horas siguientes al nacimiento, y, ligeramente inferior, en la administración por sonda entre las 20 y 32 horas posteriores al nacimiento, sin afectar a la inmunidad en ninguno de los casos (ADAMS y col., 1985).

Durante el periodo de tres semanas siguientes al parto, el reticulorumen del ternero está tan poco desarrollado y presenta una funcionalidad tan restringida que la leche, en caso de introducirse en él, pasa rápidamente a abomaso e intestino delgado, donde las inmunoglobulinas se absorben con facilidad y en gran proporción, no alterando su efectividad en el sistema inmune (LATEUR-ROWET y BREUKINK, 1983).

Además, para otro autor, la caída de leche al rumen, por administración por sonda estomacal, disminuye los niveles plasmáticos de gamma-globulinas (ZAREMBA, 1983).

En conclusión, la aplicación del cierre de la gotera en nutrición se centra en evitar el metabolismo, principalmente fermentativo, de los principios nutritivos en el rumen: proteínas de alta calidad, colesterol, vitaminas, ... y permitir que el alimento grosero se dirija al rumen donde se llevan a cabo la producción de ácidos grasos volátiles, la hidrogenación de los ácidos grasos insaturados y la síntesis proteica. La reproducción diaria del reflejo de cierre de la gotera resultaría costoso y difícil, por lo que, tras múltiples estudios, los autores han llegado a la conclusión de que hay métodos más prácticos que el cierre de la gotera, como la protección de los elementos nutritivos de alto valor con melazas, encapsulación, ... (ORSKOV, 1969; DE VUYST, 1974).

II.1.3.- Función de la gotera en la Farmacocinética.

II.1.3.1.- Repercusión de la Fisiología digestiva en la Farmacocinética.

El peculiar aparato digestivo de los rumiantes no es más que el resultado de la adaptación de un animal herbívoro a su incapacidad para digerir y aprovechar la celulosa mediante enzimas endógenas. Los animales monogástricos han solucionado este problema mediante digestiones postgástricas (en colon y ciego), mientras los rumiantes, han desarrollado una digestión fermentativa pregástrica (reticulorumen y omaso) de gran magnitud.

El buen aprovechamiento de la materia vegetal precisa una fermentación eficaz y ésta, a su vez, necesita una serie de condiciones, que se consiguen fisiológicamente en los proventrículos. Los procesos a los que se ven sometidos los alimentos atañen de igual forma a los xenobióticos administrados por vía oral, por lo que, algunos factores fisiológicos de la digestión ruminal son de gran interés farmacoterapéutico.

En primer lugar hay que hacer una clara distinción entre los rumiantes lactantes y los adultos, ya que los primeros no tienen desarrollado el complejo proventricular, no ingieren vegetales y poseen activo el reflejo de la gotera reticular. Por todo ello, se les puede considerar como animales monogástricos, tanto en aspectos nutricionales como fármacocinéticos. Así, la terapéutica vía oral de prerrumiantes resulta más amplia y presenta menos problemas que en animales adultos, principalmente en el tratamiento de diarreas con antibióticos y sulfamidas.

Se ha comprobado también que las curvas de concentración plasmática de sulfamerazina administrada por vía oral no presentaba diferencias entre ovejas

adultas atropinizadas y corderos recién nacidos (DE BACKER y col., 1984).

Así pues, vamos a analizar aquellos aspectos fisiológicos que tienen interés preciso en la terapéutica, entendiendo que el interés particular de la gotera reticular reside en la posibilidad de evitar la actuación de los mismos sobre fármacos administrados por vía oral (FIGURA II.3).

El reticulorumen tiene un gran volumen, comparable al volumen del total del espacio extracelular corporal (16 l en ovejas y 150 l en vacas), y un peso aproximadamente igual al 20% del peso del animal (DOBSON, 1967). Hay que contemplar también la baja relación superficie/volumen, a pesar de la existencia de estructuras papilares en rumen y celdillas en retículo que aumentan la superficie de absorción. La queratinización de algunas zonas del epitelio también influye en la baja relación superficie-volumen. Estos hechos influyen, en primer lugar, en la dilución del fármaco y, en segundo lugar, en la absorción del mismo.

Hay que tener en cuenta que el contenido de estas cavidades no es homogéneo, se encuentra estratificado, en base al tamaño de sus partículas y a la densidad de las mismas. Los fármacos pueden situarse en cualquiera de estos estratos, sufriendo diferentes procesos y aumentando su tiempo de absorción. Si se encuentran en la fase gaseosa pueden expulsarse con el eructo; si se encuentran unidos a material grosero pueden ser regurgitados y rumiados; si caen a la capa de depósito se retienen y si se encuentran en la capa de partículas idóneas ($V=20-30$ ml, $d=1,2$ g/ml) pasan a omaso (KORITZ, 1982). Así, en ovejas se necesitaron 5 h para equilibrar las concentraciones a ambos lados del epitelio de agua marcada (tiempo dos veces mayor que en monogástricos) (DOBSON, 1967).

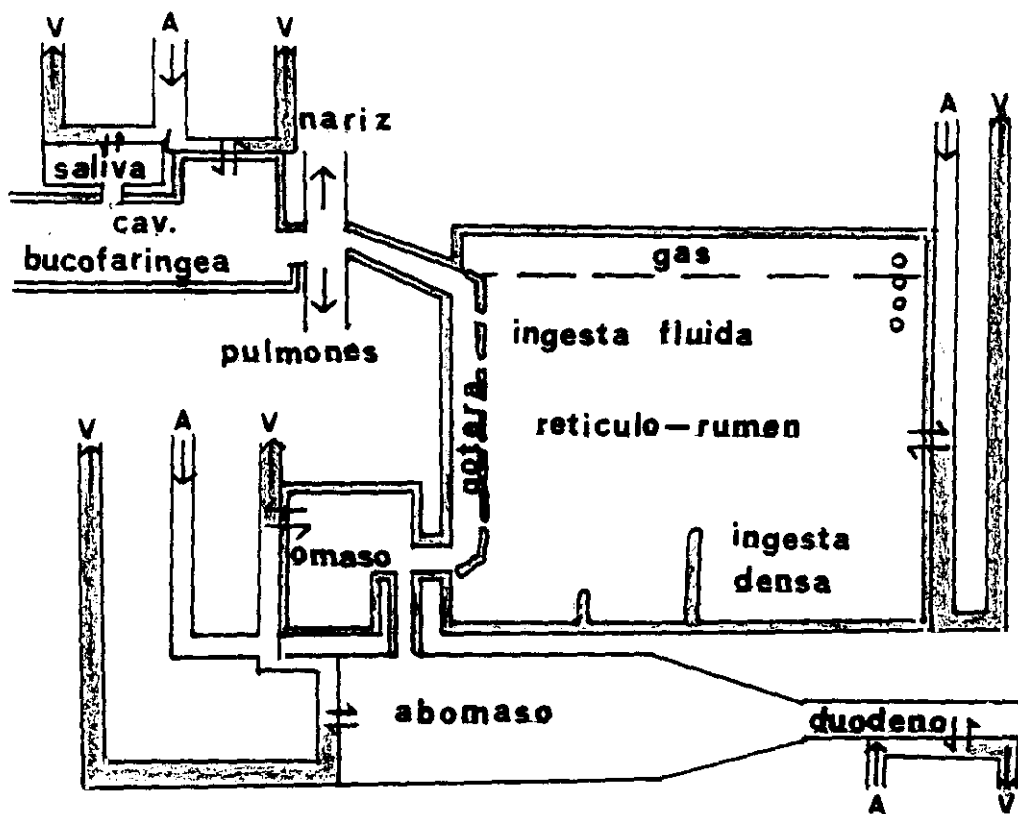


FIGURA II.3.- Principales funciones del sistema reticulorrumen que pueden influir en la biodisponibilidad de un fármaco (DUNLOP, 1983).

Otro aspecto interesante a resaltar es la velocidad de tránsito de la ingesta y, en nuestro caso, del fármaco a través de los distintos compartimentos. El paso por reticulorrumen supone un retraso natural frente a las ingestas que, vía gotera, pasan directamente a omaso y abomaso. El tiempo ocupado por las fases líquidas en transitar todo el conjunto de preestómagos y estómago oscila entre 6 y 7 h para bóvidos y óvidos, respectivamente, con una velocidad media de 380-460 ml/h.

Sin embargo, el flujo entre abomaso e intestino delgado es prácticamente continuo, con la velocidad media marcada por el vaciado de las cavidades anteriores (400 ml/h) y se realiza a borbotones de 30-40 ml (ovejas), lo que no supone un retraso adicional sobre el que se produce en las estancias anteriores (KORITZ, 1982).

Cuando se produce el cierre de gotera, las ingestas tardan aproximadamente 1-1,5 h en completar el transcurso del conjunto estomacal. Esto se traduce en tiempos de concentración plasmática máxima diferentes para los fármacos, dependiendo de la ruta adoptada por el fármaco y el tamaño y densidad de sus partículas.

Los movimientos fisiológicos que tienen lugar en estas cavidades gástricas comprenden también dos funciones significativas en los rumiantes: la rumia y el eructo. La primera ofrece la posibilidad de volver a masticar, diluir en saliva y absorber por mucosa bucofaríngea a aquellos fármacos que se encuentran inmersos en la parte del bolo que se regurgita (JENKINS, 1988). El eructo, tiene importancia en cuanto que ofrece la posibilidad, a los fármacos volátiles, presentes en la bolsa de gas, de pasar a pulmón, donde pueden ser absorbidas (DOBSON, 1967).

La saliva tiene mucha importancia en los procesos digestivos, especialmente

en estas especies, en las que su poder tampón ($\text{pH}=8,2$) es imprescindible para mantener el pH ruminal adecuado, y su elevada producción (1-2 veces el volumen extracelular corporal; 6-16 l/día en ovejas y 100-190 l/día en vacas) aporta el medio líquido necesario para que tengan lugar las fermentaciones (DOBSON, 1967).

A nivel farmacológico, hay que destacar la isotonicidad de la saliva con la sangre, que permite el equilibrio de concentraciones entre ambas. Este equilibrio se produce mediante un constante paso de fármaco de sangre a saliva, dada la continua producción y liberación de la misma.

Por todo ello, es preciso prestar atención a los ciclos rumen-sangre-saliva en los fármacos administrados por vía oral, y también a la liberación sangre-saliva de fármacos administrados parenteralmente (MORMEDE y LEDOUX, 1980).

El proceso más importante que tiene lugar en los proventrículos ruminales es la fermentación. Esta se lleva a cabo en un medio anaeróbico, con pH ligeramente ácido ($\text{pH}=6,5$; entre 6 y 7), de gran poder reductor (entre -250 y -450 mV) e hipotónico respecto al plasma (250-300 mOsm/l). En él habitan bacterias, con una población que oscila entre 1×10^8 y 1×10^{11} individuos/ml (dependiendo de la alimentación), y protozoos, 1×10^6 individuos/ml (JENKINS, 1988).

La administración de fármacos que se diluyan en retículorumen puede dar lugar a cuatro situaciones: que los fármacos no afecten en ninguna medida a la fermentación ni ésta les modifique a ellos, que alteren cualitativa o/y cuantitativamente la población ruminal sin verse modificados, que sufran transformaciones a consecuencia de la acción de la microbiota sin intervenir sobre ella y que haya un efecto en ambas direcciones.

El caos de la quimioterapia vía oral en rumiantes adultos, que se tratará posteriormente, es el ejemplo principal de fármacos que interfieren el crecimiento y desarrollo normal de la población ruminal, aunque existen otros casos, como el de los quelantes de cofactores enzimáticos. Sin embargo, la acción de los microorganismos sobre los fármacos, no depende de la acción de éstas sino de su estructura química. Por ello, se ven afectados fármacos de acciones diversas, bien disminuyendo o anulando su actividad (cloranfenicol), bien aumentándola (glucósidos cianogénéticos), o incluso transformándola (nitratos) (JENKINS, 1988).

Como último aspecto a considerar se encuentra el paso de sustancias a través del epitelio de los proventrículos, tanto en un sentido como en otro. Dentro de los distintos epitelios tiene mayor importancia el epitelio ruminal, dado que en esta cavidad es la de mayor superficie y en la que más tiempo se retiene la ingesta. Este epitelio es permeable a sustancias liposolubles, no a iones. Sin embargo, el epitelio omasal es permeable a sustancias hidrosolubles, cuya absorción se ve muy favorecida por el prensado del bolo que tiene lugar como consecuencia de la motilidad de este órgano (KORITZ, 1982). No obstante, existen mecanismos especiales de absorción para ciertas sustancias que, rompiendo la norma general, pueden pasar a través de este epitelio.

El estudio del paso de sustancias a través de esta membrana es complicado, debido a que el pH del interior ruminal puede oscilar entre 5,4 y 7,4 dentro de las condiciones fisiológicas, dependiendo del momento de la digestión y del tipo de alimentación recibida (KOLB, 1979). Las clásicas ecuaciones de paso de sustancias a través de membranas biológicas dependen de 2 factores, uno de ellos los pH a ambos lados de la membrana y otro, el pKa de la sustancia. Por ello las particularidades fisiológicas de estas especies afectan espectacularmente el paso de fármacos a través de membranas (JENKINS y col., 1975).

El paso de xenobióticos en sentido plasma-contenido ruminal tiene también importancia para la disposición de fármacos, ya que, fármacos administrados por vía oral que hayan alcanzado niveles plasmáticos considerables, pueden ver mermados éstos a consecuencia de su dilución en el extenso volumen ruminoreticular. Este hecho tiene importancia para el cálculo de la posología de los fármacos administrados por cualquier vía. El paso se realiza por difusión no iónica (sulfadimidina); también pueden tener lugar procesos de atrapamiento de iones, dada la diferencia de pH entre ambos compartimentos (JENKINS, 1988).

La absorción en abomaso e intestino delgado es similar a la que tiene lugar en los órganos correspondientes de los animales monogástricos, por lo que no vamos a prestarle especial atención.

Como consecuencia de todo ello, la administración de muchos fármacos por vía oral en rumiantes es poco práctica ya que, si la velocidad de metabolización sistémica y/o la excreción de una sustancia son rápidas, la concentración sistémica que se alcanza es poco útil (BOGAN, 1986). Sin embargo, algunos fármacos, como es el litio, utilizado en el tratamiento de enfermedades psicomotoras en ovejas, se aumentan los niveles de concentración plasmática cuando se administran por vía oral gracias a algunos de estos aspectos, como el cierre de circuitos rumen-sangre-saliva.

II.1.3.2.- Modelos farmacocinéticos de absorción especiales para rumiantes.

Clásicamente se han planteado y aceptado dos modelos diferentes de aplicación farmacocinética: el compartimental y el fisiológico.

El modelo compartimental atiende principalmente a la disposición de los fármacos en el organismo, estableciendo el término compartimento para el volumen ideal en el que existe la misma probabilidad de encontrarse cada molécula o partícula elemental del fármaco.

La base que toma el modelo fisiológico es el conjunto de aspectos de la fisiología del individuo que pueden influir en la cinética de los xenobióticos (FIGURA II.3) (DUNLOP, 1983).

Todos los métodos tienen sus ventajas e inconvenientes; cada uno tiene aplicaciones específicas y se ajusta mejor a las condiciones de especie animal, vía de administración o características del fármaco administrado. En concreto, para el estudio de la absorción de fármacos administrados por vía oral en animales rumiantes, la mayoría de los autores se han decidido por aplicar un modelo farmacocinético mixto, fisiológico-compartimental (KORITZ, 1982).

El modelo mixto considera, tanto la disposición del fármaco en los distintos compartimentos como el flujo gastrointestinal. La importancia de los distintos proventrículos y las actividades que en ellos tienen lugar, como del flujo de la ingesta ya han sido tratados. Creemos que la mejor forma de reflejar este modelo es mediante un esquema (FIGURA II.4.).

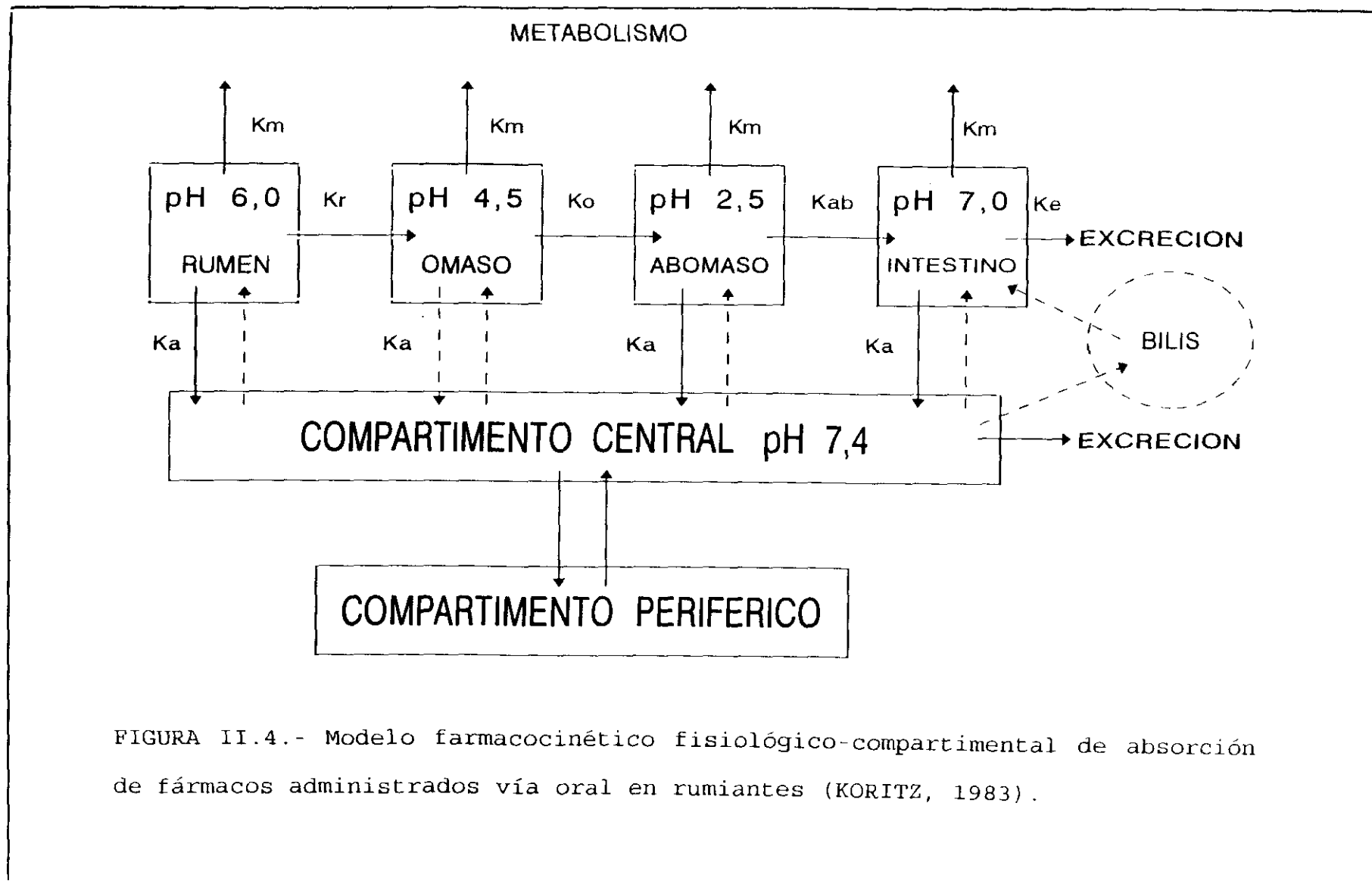


FIGURA II.4.- Modelo farmacocinético fisiológico-compartmental de absorción de fármacos administrados vía oral en rumiantes (KORITZ, 1983).

Para realizar un estudio completo de los parámetros que definen esta cinética se precisa un complejo montaje y manejo de los animales de experimentación. Se ha de administrar el fármaco en solución acuosa con un marcador que no sea ni digerido, ni fermentado, ni absorbido (generalmente Cr-EDTA o propilénglicol), bien por vía oral o directamente a uno de los compartimentos gástricos. El marcador se utiliza para saber la velocidad de flujo de la ingesta por las cavidades. Se han de tomar muestras de los contenidos de cada uno de los preestómagos para determinar los pH y las concentraciones tanto de fármaco como de marcador. También ha de realizarse un experimento con administración endovenosa para conocer la magnitud de la difusión de fármaco de sangre a compartimentos.

De los datos obtenidos del complejo protocolo someramente descrito se pueden calcular las constantes de absorción y catabolismo del fármaco en el tracto gastrointestinal, así como las constantes de velocidad de paso del mismo de un órgano a otro (KORITZ, 1982).

El estudio se puede complicar más cuando el fármaco es eliminado en elevado porcentaje por saliva, realiza circuitos entero-hepáticos o se ve sometido a metabolismo ruminal.

En muchos casos, el esquema se puede reducir a un modelo simplificado en el que el omaso y abomaso se pueden eliminar como compartimentos, ya que no constituyen un lugar donde tengan acciones especiales sobre el fármaco que influyan en su cinética.

Modelos de este tipo ya han sido utilizados para el estudio de la disposición cinética del tiabendazol y del febendazol en vacas, tras administración intrarruminal (PRICHARD y col., 1981). Se aplicó un modelo con el siguiente esquema:

/R/ ---- /T/ ---- /A/ ---- /I/ ----

donde:

/R/ = interferencia del rumen.

/T/ = posible interferencia de retículo y omaso.

/A/ = interferencia en abomaso.

/I/ = interferencia en intestino.

II.1.3.3.- Problemática de la quimioterapia vía oral.

Los agentes quimioterápicos presentan muchos problemas para su aplicación terapéutica vía oral en rumiantes adultos. En animales jóvenes, por el contrario, se utilizan bastante, obteniendo concentraciones plasmáticas adecuadas y, con ello, buenos resultados clínicos (DE BACKER y col., 1984).

Todas las especies químicas están sujetas a las enérgicas acciones de las cavidades gástricas, pudiendo modificarse en gran medida su interacción con el organismo; los quimioterápicos, además, pueden actuar de forma activa sobre la fisiología digestiva, principalmente en lo que se refiere a la microbiota ruminal (BOGAN y MARRINER, 1987).

Los quimioterápicos son sustancias que tienen efectos antagónicos específicos sobre un agente vivo, productor de una enfermedad. Estos compuestos pueden actuar también sobre microorganismos no patógenos (acción no terapéutica), de características similares. Esto es lo que sucede cuando estas drogas llegan, en forma activa, al reticulorrumen.

El efecto que se produce puede dar lugar a situaciones muy variadas pero, en cualquiera de los casos que contemplaremos, se altera la disposición del fármaco y la fisiología de la cavidad ruminal.

También puede suceder que el fármaco sea degradado o transformado en una sustancia inactiva, que se transforme en otra especie química con actividad diferente o con mayor acción, que la droga actúe como biocida o biostático sobre los microorganismos ruminales e incluso que varias de estas posibilidades sucedan a la par (un tipo de microorganismos inutilizan al quimioterápico mientras, la fracción

activa que resta actúa eliminando otras especies bacterianas).

En un medio cerrado, como es el reticulorrumen, con una micropoblación tan diversa y específica, ha de existir un perfecto equilibrio entre el medio (pH, fluidez, isotonicidad, nutrientes, anaerobiosis, ...) y los habitantes (especies, número, productos metabólicos, ...). En el momento en que se descompense alguno de estos parámetros, el sistema se desequilibra en una dirección y esto acarrea cambios concatenados que terminan en un caos fisiológico digestivo total. Esto es lo que sucede cuando un quimioterápico es capaz de alterar la proporción de las poblaciones de la "caldera ruminal" (BOOTH, 1982; BOGAN y MARRINER, 1987).

El aparato digestivo de los rumiantes y, en particular, el reticulorrumen, representa tan gran proporción frente al conjunto del organismo (en cuanto a volumen, peso e importancia funcional), que, cualquier alteración ocurrida en el mismo repercute de forma definitiva en el estado general del animal, pudiendo llegar incluso a causarle la muerte (KOLB y col., 1979).

Todo ello complica la utilización de la vía oral para los quimioterápicos en rumiantes adultos, aunque, por otra parte, este mismo hecho los convierte en fármacos terapéuticamente útiles en casos de alteraciones patológicas del equilibrio de la microbiota.

Así, se recomienda el uso de neomicina o tetraciclinas con el fin de suprimir la acción de los microorganismos con actividad ureásica en los casos de intoxicación por amoníaco, o el uso de estos mismos antibióticos u otros (cloranfenicol, eritromicina) para suprimir los organismos Gram-positivos que proliferan durante la acidosis ruminal.

En general, la microbiota ruminal está formada por bacterias Gram-negativas anaeróbicas, por lo que, en los procesos que cursan con alteración de la calidad de esta población, se suelen utilizar agentes específicos contra Gram-positivos (BOOTH, 1982).

II.1.3.3.1.- Antibióticos.

Se han llevado a cabo bastantes estudios sobre las diferencias en la absorción de los distintos tipos de antibióticos en animales rumiantes y prerrumiantes. Los resultados obtenidos han llevado a los autores a desestimar la posibilidad de utilizar la vía oral en rumiantes adultos como alternativa en la antibioterapia. Quizás por ello no se ha profundizado sobre la influencia de estos fármacos sobre la microbiota ruminal. Sí se han llevado a cabo investigaciones sobre la acción del contenido ruminal sobre las drogas, con el fin de explicar la inactividad de las mismas.

Se han obtenido buenos resultados en la terapia vía oral en prerrumiantes con penicilinas, potenciadas o no con ácido clavulánico. Los estudios llevados a cabo en vacuno con fenoximetil penicilina (10, 20 y 40 mg/kg) y con amoxicilina más clavulánico (20 mg/kg) revelan que se alcanzan niveles terapéuticos en tiempos relativamente cortos (30-60 min) que se mantienen durante horas. La biodisponibilidad se encuentra entre el 10% y el 34,5% para la fenoximetil penicilina (dependiendo de la dosis) y del 35% para la amoxicilina potenciada (SOBACK y col., 1987a; SOBACK y col., 1987b).

En ambos casos se administraron las mismas dosis a animales con el reticulorumen funcional, obteniendo concentraciones plasmáticas erráticas y muy bajas, que sólo en raras ocasiones alcanzaban los niveles terapéuticos. En el caso de la amoxicilina se comprobó que era inactivada por el metabolismo que sufría en el contenido gastro-intestinal (SOBACK y col., 1987a y b).

También se han llevado a cabo estudios con ampicilina, administrada intrarruminalmente o mezclada con la ración base, vía oral; en cualquiera de los dos casos no se consiguieron detectar ni el antibiótico ni sus metabolitos en plasma. El

mismo estudio demuestra que, cuando la ampicilina se administra vía oral, disuelta en leche, tras estimular el cierre de la gotera reticular, se pueden detectar concentraciones considerables en plasma a partir de los 52-72 min. La aparición de concentraciones efectivas en sangre es tardía debido a que este fármaco inhibe la motilidad del tracto digestivo (especialmente la intestinal) (THOMPSON y BLACK, 1978).

En estudios realizados posteriormente en ovejas y cabras se han obtenido biodisponibilidades del 56% y 63% respectivamente y concentraciones plasmáticas medias de 0,39 y 0,65 $\mu\text{g/ml}$ tras administración vía oral de 10 mg/kg (NAWAZ y KAHN, 1991).

La eritromicina tiene restringido su uso a animales prerrumiantes debido a que los niveles plasmáticos tras administración oral (20 mg/kg) en adultos son bajos erráticos y variables. Sin embargo, la misma dosis en terneros prerrumiantes presenta una biodisponibilidad del 24,5% y concentraciones plasmáticas máximas (2,21 $\mu\text{g/ml}$) a las 4 h.

Con las cefalosporinas sucedía algo semejante; fueron probadas también en bóvidos prerrumiantes (2-4 semanas de edad; 10 y 20 mg/kg) y rumiantes (8-10 semanas de edad; 20 mg/kg). Los cinco antibióticos probados (cefatrizina, cefalexín, cefradina, cefaclor y cefadroxil) presentaron una biodisponibilidad aproximada del 35%, con tiempos máximos de absorción entre 3 y 4 h, en animales jóvenes. En los terneros con la función gástrica desarrollada los niveles plasmáticos eran erráticos y sólo en el caso del cefadroxil alcanzaban una concentración cercana a la terapéutica (2,75 $\mu\text{g/ml}$) (SOBACK y col. 1987c).

El caso del cloranfenicol ha sido estudiado en bóvidos, óvidos y cápridos. En

todos ellos se ha comprobado que se absorbe bien por la mucosa del abomaso y que se degrada en el rumen por acción de la microbiota en magnitud variable dependiendo de la alimentación (NIJMEIJER y col., 1990).

Con dosis de 50 mg/kg, en prerrumiantes, se consiguen niveles terapéuticos (5,5 μ g/ml) entre las 2 y 3 h post-administración. A medida que se desarrolla el reticulorumen y se instaura la flora en su interior, los niveles plasmáticos descienden (entre las semanas 6 y 18 de edad) hasta hacerse inapreciables en animales adultos (DE BACKER y col., 1978; DE CORTE-BAETEN, 1978). En éstos produce diarreas e incluso muerte en un 75% de los casos, cuando se administra repetidamente.

Sólo en algunos casos, se supone que con motivo del cierre ocasional de la gotera reticular, se han obtenido concentraciones plasmáticas terapéuticas en adultos con rumen funcional (DE BACKER y DEBACKERE, 1979). Esto se justifica por que el cloranfenicol, administrado vía oral a vacas en forma de solución, alcanza mayores concentraciones plasmáticas, en un tiempo menor (1 h) que en forma de cápsulas (4h), debido posiblemente a que la solución provoca el cierre de la gotera (HUFFMAN y col., 1981).

Las tetraciclinas presentan un comportamiento cinético más complejo al administrarse vía oral. En los prerrumiantes o en los rumiantes alimentados con líquidos de origen lácteo (conservan un porcentaje de cierre de la gotera mayor que los alimentados con dieta sólida), se obtienen dos picos de concentración plasmática con clortetraciclina, mientras en los adultos alimentados con sólidos, sólo se obtienen un pico máximo (BRADLEY y col., 1982). Los picos aparecen como consecuencia del antibiótico absorbido en abomaso tras pasar vía gotera (30-60 min post-administración) y vía reticulorumen (5 h), respectivamente. Los terneros de 4-6

semanas presentan una biodisponibilidad absoluta del 46,35 % de la oxitetraciclina administrada vía oral (50 mg/kg), de la cual, un 27% se absorbe en abomaso de forma rápida al transcurrir por gotera (SCHIFFERLI y col., 1982).

El caso de la monensina sódica, antibiótico ionóforo muy utilizado hasta hace poco tiempo como aditivo promotor del crecimiento, no se ha tratado con fines terapéuticos, sino para comprobar su implicación en la toxicidad del selenio. La alteración de la flora ruminal producida por este fármaco hace imposible la transformación del elemento en sal insoluble, quedando en forma absorbible (WANG y col., 1990).

La tiamulina, utilizada hoy en aves y cerdos, tanto por vía oral como parenteral, en el tratamiento de enfermedades infecciosas respiratorias y digestivas, se ha visto experimentalmente que, administrada a terneros prerrumiantes por vía oral también ofrece rápida absorción (30 min) y alcanza niveles plasmáticos terapéuticos, con un pico único y pequeño (ZIV y col., 1983).

Se da la circunstancia de que otros fármacos que se suelen administrar junto a antibióticos, como es la bromohexidina, en infecciones de vías respiratorias, precisan administración parenteral en vacas, debido a que el metabolismo en rumen es elevado y, en consecuencia, su biodisponibilidad es muy baja (17%) (FRIIS y col., 1991). En estos casos es más práctico administrar todos los fármacos (antibiótico y espectorante) por vía parenteral.

II.1.3.3.2.- Sulfamidas.

Las sulfamidas, solas o potenciadas con diaminopiridinas, tienen un comportamiento cinético similar al visto para los antibióticos tras la administración oral a rumiantes. Por ello, no se recomienda el uso de estos quimioterápicos en adultos aunque sí se utilizan mucho en el tratamiento de diarreas en recién nacidos y terneros.

Casi todas las sulfamidas, por sus propiedades químicas, se absorben bien a través de la mucosa del abomaso y son destruidas por la microbiota ruminal, por ello, sus niveles plasmáticos tras la administración *per os* a las dosis terapéuticas indicadas no alcanzan las concentraciones inhibitorias mínimas (MIC) de las bacterias susceptibles. Además, en algunos casos se ha observado la aparición del efecto "flip-flop", ya que la velocidad de la absorción es menor que la de eliminación (ODEGAARD y RASTAD, 1987).

En algunos casos -como la sulfadimidina, sulfameracina, sulfapiridina y sulfadiazina- se han conseguido alcanzar los niveles plasmáticos terapéuticos (50 µg/ml) a costa de aumentar la dosis terapéutica (50-70 mg/kg, p.o.), hasta 143 mg/kg (SCHIPPER, 1964; GARWACKI y col., 1991). Otras sulfamidas no han sido probadas a dosis mayores que las recomendadas, como el sulfafenazol (50 mg/kg) (ODEGAARD y RASTAD, 1987). En los casos del sulfametoxazol, sulfatiazol y sulfanilamida, ni siquiera aumentando la dosis a 100 y 140 mg/kg se ha conseguido obtener niveles terapéuticos mínimos (JAIN y UPPAL, 1984; SCHIPPER, 1964).

Se ha comprobado que en cuadros de mastitis ovina que cursan con aumento del pH de la leche (pH=7,5) puede ser útil la terapia oral con algunas sulfamidas,

como es la sulfametazina, ya que se consiguen niveles de 50-60 $\mu\text{g/ml}$ del fármaco en leche, con 20 mg/kg vía oral (TUNNIELIFF y SWINGLE, 1965). Además, la sulfametazina es una de las sulfamidas con mayor biodisponibilidad (52-58%) en ovejas tras la administración oral (100 mg/kg) (BULGIN y col., 1991).

También se ha intentado conseguir una buena biodisponibilidad de estas drogas mediante administración conjunta con leche o preparados lácteos; con sulfadiazina potenciada con trimetoprim se consiguieron buenos resultados en terneros sólo durante un periodo de tiempo corto post-destete y con concentraciones plasmáticas eficaces ($> \text{MIC}$) pero poco duraderas (SHOAF y col., 1987).

Se ha comprobado que la administración conjunta de sulfamidas con trimetoprim y aditoprim para conseguir su potenciación no mejora los niveles plasmáticos obtenidos para el quimioterápico (JAIN y UPPAL, 1984). Sí se ha observado que los niveles máximos de sulfametazina en corderos son mayores y más precoces, aunque menos duraderos, en los animales desparasitados (RIGHTER y col., 1979).

El aditoprim (10 mg/kg) y el trimetoprim (20 mg/kg) se han utilizado como potenciadores de las sulfamidas con muy buenos resultados en animales monogástricos y en prerrumiantes, en los que la biodisponibilidad es prácticamente del 100%. En cabras adultas esta biodisponibilidad disminuye a un 71% y a un 10,3%, respectivamente, para ambos fármacos (KNOPPERT y col., 1988); con las dosis indicadas, en ninguna de las especies rumiantes se obtienen niveles terapéuticos. Ello se debe al acúmulo de factores que concurren sobre estas especies químicas en el rumen: se acumulan en el contenido por su carácter liposoluble, no se absorben por pared ruminal y son metabolizados por la microbiota (JAIN y UPPAL, 1983).

En pruebas realizadas con sulfadiazina (15 mg/kg) con trimetoprim por vía oral en terneros de distintas edades, se ha comprobado que las concentraciones plasmáticas máximas disminuyen con la edad (48 h-6 semanas post-nacimiento). En los de mayor edad no se conseguían en ningún momento concentraciones terapéuticas de sulfamida (GUARD y col., 1986).

Para poder administrar oralmente la sulfadimidina (240 mg/kg) con trimetoprim en ovejas, evitando estos problemas (alteración de la motilidad ruminal, disminución de la síntesis de vitaminas K y B, inapetencia, ...) se han buscado dos soluciones: formulaciones granuladas, que protegen al fármaco de la acción ruminal y administración mediante biberón, consiguiendo el cierre de la gotera (PASHOV y col., 1991).

Otros quimioterápicos de aplicaciones terapéuticas similares a las sulfamidas, como las quinolonas, plantean problemas similares. Se han utilizado con éxito en el tratamiento vía oral de diarreas neonatales en rumiantes (flumequina), por su elevada biodisponibilidad, consiguiendo un único y elevado pico máximo de concentración plasmática (ZIV y col., 1986), pero no son útiles en animales con el reticulorumen desarrollado.

Los trabajos llevados a cabo por Mustafa y col. (1985) con furazolidona en cabras demostraban que la administración de este fármaco por vía oral, a dosis de 10 mg/kg, presentaba diferentes patrones de comportamiento dependiendo de la aparición o no del cierre de la gotera. Las diferencias se encontraban en la magnitud y el tiempo de presentación de los picos de concentraciones plasmáticas: 1,57 $\mu\text{g/ml}$ a las 8 h post-administración en caso de no verificarse el cierre de la gotera frente a 2,13 $\mu\text{g/ml}$, a las 6 h en caso de producirse dicho cierre.

En terneros prerrumiantes se han obtenido también picos bajos de concentraciones plasmáticas (2,5 y 3,5 $\mu\text{g/ml}$) tras la administración oral tanto de furaltadona como de nitrofurazona (14 mg/kg, ambas), con elevados tiempos máximos (3h) (NOUWS y col., 1987).

II.1.3.3.3.- Antiparasitarios.

La terapeutica antiparasitaria tiene unas connotaciones especiales frente al resto de los quimioterápicos revisados. Por una parte, la vía oral es obligada en gran parte de los fármacos, debido a la insolubilidad de éstos en vehículos adecuados para las vías parenterales. Además, la duración de algunos ciclos parasitarios requiere que los niveles plasmáticos de los fármacos se mantengan durante bastante tiempo (días), a veces, con una sola administración, incluso en los casos de parasitosis gastro-intestinales (COOPER, 1982; SCOTT y col., 1990; PRICHARD y col., 1991).

En este caso, el rumen puede realizar una acción beneficiosa al actuar como reservorio y liberar de forma continua y prolongada el antiparasitario para que éste sea absorbido en el abomaso, consiguiendo concentraciones plasmáticas duraderas y efectivas (KELLY y col., 1977; PRICHARD y col., 1981); es el caso de los benzimidazol carbamatos.

Para potenciar este efecto se ha ensayado en ovejas la reducción de la ración alimenticia a la mitad durante 12 h antes de la administración oral de estos compuestos. De esta forma se consigue un aumento de la biodisponibilidad y de la acción antihelmíntica de los mismos, debido a la disminución de la velocidad de tránsito de la ingesta por los preestómagos (HENNESSY y col., 1991).

El rumen también puede actuar metabolizando el fármaco, mediante la acción de sus microorganismos para dar sustancias más activas; es el caso del netobimín, que se reduce en el rumen de los terneros a albendazol o a sulfitos y sulfatos de albendazol (LANUSSE y col., 1991 a).

Estos fármacos, utilizados principalmente en el tratamiento de distintas tricostrongilidosis, muestran una efectividad errática frente a *Ostertagia ostertagi* y *Trichostrongylus colubriformis*, al ser administrados oralmente.

Aunque se han estudiado varios posibles motivos de este hecho, se ha comprobado que el factor determinante de la variación de la actividad farmacológica era la vía de administración elegida y la ruta tomada por los antihelmínticos (DUNCAN y col., 1977; PRICHARD y col., 1991). Cuando los benzimidazoles se dirigen directamente al abomaso (por administración intraabomasal o vía oral con cierre de gotera) la eficacia antihelmíntica disminuye considerablemente frente a tratamientos idénticos por vía intrarruminal u oral sin cierre de gotera (HOGARTH-SCOTT y col., 1976; CUMMINS y CALLINAN, 1979).

Sin embargo, el cierre de la gotera reticular en rumiantes adultos, como hemos visto, no es tan frecuente como para explicar por sí solo los resultados obtenidos; se ha comprobado que, algunas de estas drogas, por sí mismas, tienen efecto positivo sobre el cierre de la gotera (hasta un 42% de efectividad), como sucede con el oxibendazol (PRICHARD y HENNESY, 1981), o pueden retrasar su estancia en reticulorumen, como ocurre con el oxfendazol (PRICHARD, 1985).

Además, en algunos casos, como ocurre con el oxfendazol administrado vía oral a cabras y el febantel en ovejas, la biodisponibilidad de los mismos se puede reducir de forma marcada como consecuencia directa de la presencia de parásitos en abomaso (*O. circumcincta*) o en duodeno y yeyuno (*T. colubriformis*) (BOGAN y col., 1987; VYNCKIER y col., 1991).

En los experimentos realizados en ovejas con tres antihelmínticos benzimidazólicos se han obtenido ligeras variaciones en cuanto a su comportamiento

dentro del estómago pluricavitario. El fenbendazol presenta concentraciones plasmáticas máximas a las 24 h, transformado principalmente en oxfendazol (más activo) (MARRINER y BOGAN, 1981a). Estos datos se han corroborado en vacas, en las que se admite un 88% de absorción ruminal (frente a un 70% del tiabendazol) (PRICHARD y col., 1981).

El oxfendazol alcanza concentraciones terapéuticas a partir de las 4 h de su administración y las mantiene durante 7 días, gracias a su retención y dosificación en rumen; además, el oxfendazol es reducido por la microbiota ruminal y transformado en fenbendazol, que es menos activo (MARRINER y BOGAN, 1981 b; PRICHARD, 1985).

El albendazol presenta la concentración plasmática máxima a las 16 h de su administración, manteniendo niveles óptimos hasta las 48 h; se metaboliza en gran medida, a compuestos que también son farmacológicamente activos (MARRINER y BOGAN, 1979).

Todos ellos presentan concentraciones apreciables tempranas (10 min post-administración) en fluido abomasal como consecuencia del cierre de la gotera, pero sólo el oxfendazol lo hace en un porcentaje suficiente como para repercutir en los niveles plasmáticos de forma notoria. Los otros compuestos presentan una eficacia de cierre de la gotera del 42%.

Se han realizado pruebas adicionales con albendazol para saber si la forma del preparado farmacéutico modifica las concentraciones plasmáticas y la eficacia de esta droga. En U.S.A. estos antihelmínticos se utilizan en forma de soluciones, con las que se ha visto se provoca el cierre de la gotera: en el resto de los países se utilizan en forma de pasta (no existe cierre demostrado de gotera). Ni en las

concentraciones en plasma ni en los contenidos ruminal y abomasal se han encontrado diferencias significativas entre las dos formas (MARRINER y col., 1981).

Los trabajos realizados con netobimín (20 mg/kg) en terneros aportan niveles plasmáticos bajos; sin embargo, se obtienen picos elevados de albendazol, que se origina por ciclación del netobimín en algún lugar del tracto digestivo, posiblemente en el rumen (LANUSSE y col., 1991). Estos resultados coinciden con los encontrados en ovejas, en las que, además, se ha comprobado que el metimazol puede modificar esta disposición cinética (LANUSSE y col., 1992).

La administración vía oral de las ivermectinas, por el contrario, no está indicada en rumiantes adultos, ya que se metabolizan en el rumen originando especies químicas, farmacológicamente menos activas (PRICHARD, 1985). Tanto las ivermectinas como sus metabolitos presentan una biodisponibilidad muy baja (25%).

En experimentos realizados en ovejas y cabras, se obtuvo una biodisponibilidad prácticamente del 100% con administración intraabomasal, apareciendo rápidamente un pico elevado en las concentraciones plasmáticas, que se mantenían durante un período largo de tiempo. Sin embargo, con la administración intrarruminal (200 ug/kg) se obtenían una biodisponibilidad del 25%, bajas concentraciones plasmáticas, más tardías y menos duraderas que las anteriores (hasta 72-120 h) (PRICHARD y col., 1985; SCOTT y col., 1990).

Después de conocer su comportamiento cinético, la escasa persistencia de su efecto (por ejemplo, contra *Trichostrongylus* sp.) y los mejores resultados farmacológicos de la administración subcutánea, en el Reino Unido está permitido

el uso de ivermectinas en ovejas en forma de solución oral como antihelmíntico (MARRINER y col., 1987).

Algunos antiparasitarios contra trematodos utilizados en rumiantes, tanto para el tratamiento de la fasciolosis como de la paramfistomosis, son apropiados para administrar por vía oral (rafoxanida y closantel), mientras otros (niclofolán, oxiclozanida y nitroclofene), no lo son.

El niclofolán probado en ovejas por vía oral (4 mg/kg) ha mostrado una baja biodisponibilidad. A ello achacan los autores su baja eficacia contra *F. hepatica* y *F. gigantica*. Los bajos niveles plasmáticos obtenidos podrían deberse a un metabolismo de primer paso en rumen o hígado, lo que se podría evitar parcialmente si este fármaco se dirigiera directamente a abomaso (ALI y col., 1990).

El clorsulón, tanto en oveja como en vaca y cabra, a dosis de 7 mg/kg por vía oral presenta buenos niveles plasmáticos. El rumen retrasa considerablemente la aparición de los picos máximos de concentración frente a los que aparecen en monogástricos, pero parece destruir el compuesto (SUNDLOF y WHITLOCK, 1992 b).

La oxiclozanida, aunque se absorbe rápidamente, no consigue niveles plasmáticos terapéuticos mantenidos (MOHAMMED-ALLI y BOGAN, 1987).

El nitroclofene, como todos los nitrocompuestos, es reducido por la flora ruminal y por ello no alcanza los niveles plasmáticos terapéuticos a dosis de 5 mg/kg P.V. Sin embargo, en prerrumiantes, a la misma dosis, consigue concentraciones plasmáticas diez veces mayores (22,4 µg/ml), por lo que se estudia como tratamiento de elección (LADAGE y col., 1989).

El niclofolán, además de sufrir metabolismo ruminal, presenta una pobre absorción a nivel del tracto gastro-intestinal, por lo que, no se recomienda tampoco en animales jóvenes (ALI y col., 1990).

Con los otros fármacos mencionados se obtienen eficacias del 86-87% en la eliminación de las "duelas", gracias a las concentraciones plasmáticas alcanzadas y mantenidas (23 $\mu\text{g/ml}$ de rafoxamida y 19 $\mu\text{g/ml}$ de closantel), con 7,5 mg/kg de cualquiera de los dos fármacos (MOHAMMED-ALI y BOGAN, 1987).

El metronidazol, utilizado en el control de la tricomoniasis bovina, es recomendado por vía parenteral, ya que, por vía oral (vía de elección en monogástricos, por su baja solubilidad en agua) presenta una biodisponibilidad de $6,9 \pm 3,6\%$, en vacas, como resultado del elevado metabolismo ruminal (FRIIS, 1991).

Un caso similar es el del ronidazol en ovejas, con biodisponibilidades del 5,45 y 4,62% por vías oral e intrarruminal, respectivamente (VYNCKIER y DEBACKERE, 1991).

II.1.3.4.- Problemática de la terapia antiinflamatoria.

Los antiinflamatorios utilizados en rumiantes, por norma general se administran por vía parenteral; sin embargo, se está estudiando la posibilidad de utilizarlos por vía oral, como antiinflamatorios, analgésicos y antagonistas de prostaglandinas (los que poseen este mecanismo de acción).

Los experimentos llevados a cabo en vacas con fenilbutazona son contradictorios; para unos autores sería posible y útil su administración por vía oral con el siguiente régimen: dosis inicial de 10-20 mg/kg P.V. y dosis de mantenimiento de 2,5-5 mg/kg P.V. (DE BACKER y col., 1980), consiguiendo concentraciones plasmáticas buenas, con picos únicos, a las 8 h aproximadamente (pasando por rumen), y una biodisponibilidad del 67,5% (EBERARDSON y col., 1979; MARTIN y col., 1984), con el único inconveniente de la lenta eliminación. Para otros autores, las concentraciones séricas no se mantienen constantes, reflejando dos picos. No se tiene la certeza de que este hecho se deba al paso de un porcentaje del fármaco vía gotera, ya que se ha observado en algunas ocasiones este mismo efecto en caballos (LEES y col., 1988 b).

Nos interesan más las investigaciones que se han llevado a cabo con los agentes derivados del ácido antranílico, en concreto, con el ácido meclofenámico y su sal sódica. Este fármaco se administra vía oral o intravenosa, y experimentalmente, intrarruminal a terneros. Su absorción a nivel digestivo es rápida en animales monogástricos, pero, en los poligástricos, presenta variaciones en orden a la ruta tomada (KOUP y col., 1990; BOOTH, 1982).

Cuando se administra vía endovenosa se presentaba una caída rápida entre los 20 y 60 min y un descenso lento de 4 h. Si se administra oralmente a équidos,

aparece la concentración plasmática máxima entre la primera y cuarta hora y los niveles terapéuticos ($2\text{ }\mu\text{g/ml}$) se mantienen durante 6-8 h. En rumiantes, la administración oral del ácido meclofenámico (20 mg/kg, en 150 ml de solución) produce dos picos, de magnitud similar, en la curva de concentración plasmática: uno a los 30-40 min y otro entre las 4 y 6 horas. Si se administra el fármaco intrarruminalmente (20 mg/kg, 150 ml de solución), aparece un solo pico a las 5 horas aproximadamente, más pequeño que el segundo pico del caso anterior (AITKEN y SANFORD, 1975 a; COOKE y NICHOLSON, 1981).

Tras la administración a terneros prerrumiantes de meclofenamato sódico, por vía intramuscular (20 mg/kg, en solución acuosa), se consiguieron niveles plasmáticos máximos a los 15 minutos, seguidos de una lenta disminución durante 24 h. Esta misma forma administrada por vía oral (10 mg/kg, en sol. acuosa) ofrece resultados diferentes dependiendo del desarrollo fisiológico del estómago. En animales con reticulorumen funcional se obtienen dos picos máximos: uno a los 20 min. y otro entre las 8 y 10 h. Si el reticulorumen no es funcional, sólo se observa una concentración máxima a los 20 min (MARRINER y BOGAN, 1979).

La posible explicación que se ha dado a este conjunto de resultados es que el compuesto, por sí mismo, en forma de ácido meclofenámico, no es capaz de provocar el cierre de la gotera reticular. Por ello sólo una pequeña parte pasa directamente a abomaso para dar lugar a un primer pico, de pequeña magnitud; el resto de la dosis pasa a rumen, completa el recorrido por todas las cavidades y aparece en abomaso e intestino, dando lugar al segundo pico. Cuando se administra meclofenamato sódico, se sospecha que la gotera esofágica se cierra por acción del ión sodio, y ello da lugar a un primer pico de mayor calibre que el segundo (AITKEN y SANFORD, 1975 a; MARRINER y BOGAN, 1979).

No se pueden atribuir con certeza las variaciones de los niveles plasmáticos de este fármaco al cierre de la gotera reticular, pero sí se puede decir que los experimentos realizados en cabras con ácido meclofenámico por vía oral (500 mg/animal/día), para su posible aplicación como inhibidores de la síntesis de prostaglandinas durante los 4 días anteriores al parto, no han sido efectivos. La ausencia de efectos sobre el desarrollo del parto y la ausencia de reducción de liberación de prostaglandinas hace pensar que la ruta oral no es la más adecuada para la administración del ácido meclofenámico y que este hecho es el responsable de los erráticos niveles plasmáticos alcanzados (Cmax entre 2,05 y 4,25 $\mu\text{g/ml}$) (COOKE y KNIFTON, 1981).

II.1.3.5.- Aplicaciones terapéuticas.

Como consecuencia de todo lo expuesto anteriormente, la dosificación de fármacos vía oral a animales rumiantes ha constituido, para los clínicos veterinarios, farmacólogos y farmaceuticos, un reto. Gracias al estudio de la fisiología digestiva de estas especies y mediante la aplicación de diseños y modelos farmacocinéticos apropiados, se ha llegado a una mejora en la absorción de los fármacos, en muchas ocasiones, a través del diseño de formas especiales de administración.

Así, existen formulaciones farmaceuticas que intentan utilizar el reticulorrumen como reservorio del que se liberan los fármacos lentamente. Consisten en bolos o tabletas que se localizan temporalmente en el rumen gracias a que su densidad les impide flotar; contienen fármacos que actúan sobre la microbiota ruminal o bien fármacos resistentes a la misma que se liberan a la fase líquida y pasan de forma lenta pero continua a las zonas digestivas de absorción (bolos de cobalto o de sulfamidas) (HERD, 1988; LANUSSE y col., 1992 a).

Otra de estas formas especiales consiste en especialidades protegidas de la degradación microbiana o/y de los ácidos del abomaso. Son preparaciones con cubiertas resistentes a las fermentaciones de los microorganismos y ácido lábiles o ácido resistentes, dependiendo de que se desee su liberación en abomaso o en intestino delgado, respectivamente.

Para evitar el paso de los fármacos por reticulorrumen y la interacción con la microbiota, también se puede provocar el cierre de la gotera reticular. Este es el método en que estamos trabajando y que ya se ha ensayado en algunos casos, con resultados variables, como vamos a ver.

De forma natural, en animales prerrumiantes, se utiliza el cierre de la gotera reticular para vehicular xenobióticos directamente a abomaso, para evitar su destrucción en el rumen. De aquí que la terapéutica por vía oral esté muy extendida en animales de corta edad. Se ha comprobado que se pueden administrar a terneros hasta cápsulas de 1,5 x 4 cm (carotenos, y vitaminas A y E) (HEGLAND y col., 1957).

En bóvidos adultos se han utilizado técnicas de premedicación bastante eficaces a la hora de provocar el cierre de la gotera. Esta premedicación consiste en 2 ml de una solución de Lys-vasopresina (0,03 U.I./kg P.V.) por vía endovenosa (MIKHAIL, 1986). Se ha utilizado esta práctica en el tratamiento de cetosis primarias, toxemias de gestación y diarreas inespecíficas.

Se probaron dosis de 0,01; 0,03; 0,2 y 0,5 UI/kg de Lys-Vasopresina hasta averiguar las más adecuadas. Los valores fisiológicos de concentración de vasopresina en plasma son 1,49 pg/ml y se ha comprobado que para conseguir el cierre de gotera se necesitan concentraciones superiores o iguales a 60 pg/ml. Esto sólo se consigue con dosis mínimas de 0,03 UI/kg, cuyo tiempo medio de excreción es de 3 h (MIKHAIL, 1986; MIKHAIL, 1987).

En la cetosis, tras la premedicación (0,08 U.I./kg P.V.) se administraba una solución de agua templada (1 l) con 500 g de glucosa vía oral; el tratamiento se repetía dos veces al día. Con una administración única se conseguían concentraciones plasmáticas de glucosa mayores y mantenidas durante más tiempo que con la infusión endovenosa del azúcar (REHAGE, 1986).

Si se quiere conseguir una mejora total, hay que mantener el tratamiento durante 10-20 días, al cabo de los cuales se llegan a conseguir recuperaciones

rápidas de los valores de funcionalidad hepática y metabólica así como un aumento del 32 % en la producción láctea (SCHOLZ y REHAGE, 1987; SCHOLZ, 1990).

Los resultados del tratamiento vía oral en cetosis primarias son mejores que por vía endovenosa; sin embargo, no hay diferencias entre ambas formas de administración en cuanto a la respuesta al tratamiento de cetosis secundarias (REHAGE, 1986).

El tratamiento de la toxemia en ovejas en gestación también se llevó a cabo mediante administración de solución de glucosa por vía oral (50 g/individuo), tras la premedicación con vasopresina. El tratamiento se repetía dos veces al día y se mantenía durante 3 días consecutivos. Los resultados fueron aumento de glucemia, disminución de cuerpos cetónicos y NEFA en sangre, recuperación del apetito y partos normales (EL-HAMAMSY y col., 1990).

Los cuadros de diarrea inespecífica en bóvidos se trataron vía oral con 2 l de una solución que contenía: NaCl (0,9 %), carbón activado (250 g) y un agente antidiarreico comercial (100 g), tras la vasopresina por vía endovenosa. Se obtuvieron mejores resultados en cuanto a reducción de contenido de agua de las heces, normalización del color de las mismas, aumento de ingestión de alimentos y aumento de peso corporal, frente a los animales tratados con soluciones similares pero sin pretratamiento (SCHOLZ, 1990).

Así mismo, una terapia oral similar, consistente en carbón activo y extractos vegetales disueltos en solución salina y aceite de linaza, aplicada 2 veces al día en vacas de 2-4 años de edad, durante 3 días, ofrecía un 90 % de efectividad si se acompañaba de pretratamiento con vasopresina e.v. (0,08 U.I./kg). Sin pretratamiento, la efectividad era del 69 %.

En los casos de recuperación, la restauración del apetito, de la consistencia fecal y de los valores hemáticos de Na, K, CO_2^- y pH era más rápida en el primer caso (MIKHAIL, 1986). Además, se recuperaba totalmente el peso perdido, mejora que nunca se conseguía con el protocolo clásico de tratamiento (SCHOLZ y col., 1987; MIKHAIL, 1987).

También se han realizado pruebas para mejorar la absorción del cloranfenicol por vía oral en cabras adultas, mediante tratamiento previo con Lys-Vasopresina. Se pretendía conseguir una biodisponibilidad para el antibiótico semejante a la que ofrece el fármaco en animales monogástricos y prerrumiantes (muy próxima al 100%). Sin embargo, a pesar de haberse comprobado anteriormente la efectividad en esta especie del cierre de la gotera mediante administración e.v. del péptido (BRUGERE y col., 1987 a; BRUGERE y col., 1987 b), los niveles plasmáticos de cloranfenicol conseguidos fueron similares a los alcanzados en las mismas condiciones sin pretratamiento; siempre por debajo de los terapéuticos (NIJMEIJER y col., 1990).

Tampoco se han encontrado diferencias significativas en los niveles plasmáticos, salivares y urinarios de fósforo entre administración del mismo intrarruminalmente y tras la administración vía oral con pretratamiento de Lys-vasopresina en vacas. En este caso, las concentraciones plasmáticas conseguidas estaban en el rango de las terapéuticas (SCHOLZ y THOMSEN, 1990).

Algo similar ocurría en las pruebas realizadas en novillos para controlar la ostertagiasis con fenbendazol. La eficacia del mismo tratamiento, medida en % de inhibición del cuarto estado larvario del parásito, no presentaba diferencias significativas con cierre de gotera frente a gotera abierta. El tratamiento clásico ofrece una eficacia del 93%, mientras el pretratamiento de cierre de gotera reticular

aumentaba el mismo hasta el 99% (ANDERSON, 1979).

II.1.3.6.- Toxicocinética.

Se han descrito casos de cuadros tóxicos en los que la gotera reticular desempeña un papel fundamental en cuanto a la modificación de la cinética de las sustancias tóxicas productoras de los mismos.

En 1979, se comprobó la diferencia de toxicidad encontrada para una misma dosis de sulfato de cinc (ZnSO_4) en ovejas cuando se administraba vía oral (mediante pistola) o intrarruminalmente. En el primer caso aparecían lesiones en abomaso y páncreas y, en ocasiones, la muerte del animal. Con la administración directa a rumen no se encontraba signo aparente alguno de intoxicación. El cierre de la gotera, provocado por la propia sal de cinc, conducía la solución tóxica a abomaso, donde provocaba daños locales y era absorbida, produciendo otros daños sistémicos (SMITH y col., 1977; SMITH y col., 1979).

Otro caso de intoxicación en el que se encuentra implicada la gotera es el descrito en ganado vacuno por raíces acuosas de cicuta. El principio tóxico, la cicutoxina, es susceptible de metabolización en el rumen. Sin embargo, cuando se ha comprobado que existe cierre del surco reticular, esta sustancia se dirige directamente a abomaso, es absorbida y produce el cuadro tóxico típico (SMITH y LEWIS, 1987).

II.1.4.- Control del estado fisiológico de la gotera.

II.1.4.1.- Métodos para detectar el estado de apertura o cierre de la gotera.

La capacidad del surco reticular para convertirse en un conducto cerrado por el que pueden transcurrir las ingestas, produciendo el by-pass del rumen constituye la propiedad más importante de esta estructura, con gran número de consecuencias y aplicaciones, como ya hemos visto. De ello se desprende la necesidad de conocer el estado de apertura o cierre (labios separados o solapados) de la gotera.

No ha sido fácil encontrar un método fiable, sencillo y que no causara daños al animal; en los distintos estudios consultados hemos encontrado técnicas muy variadas que a veces precisaban de utilización paralela para obtener fiabilidad en los datos (ROBINSON y col., 1977 b).

Hemos clasificado las técnicas con el fin de ordenar y sistematizar los conocimientos adquiridos:

I.- DIRECTOS

- 1.- Con sacrificio del animal.
 - a.- Visual directa.
- 2.- Sin sacrificio del animal.
 - a.- fístula ruminal + visual.
 - b.- palpación de los labios.
 - c.- palpación del caudal.
 - d.- fibroendoscopia.

II.- INDIRECTOS

1.- Subjetivos

- a.- conducta agresiva.
- b.- excitación juvenil.
- c.- tinción con cristal violeta.

2.- Objetivos

A) Químicos

- a.- detección de sustancias en rumen y abomaso:
 - polietilenglicol-4000.
 - cloruro de estroncio.
 - salicilato sódico.
- b.- detección de sustancias en plasma.
 - glucosa.
 - xilosa.

B) Físicos

- a.- marcaje con sustancias radiopacas:
 - radiografía.
 - radioescopia.
- b.- marcaje con sustancias radiopacas + fotografía.
- c.- cinerradiografía.
- d.- marcaje con sustancias radioactivas:
 - glucosa C14.
 - 5Cr-E + 103-Ru-P.
 - Ce141.
- e.- termosensores.
- f.- presensores.
- g.- electromiografía.

Los métodos directos pueden, o no, necesitar del sacrificio del animal. Los cruentos, precisan de intervención quirúrgica previa, que consiste en una ruminotomía, tras la cual se deja una vía permanente por la que se pueda ver o palpar la posición relativa de las partes de la gotera (HEGLAND y col., 1957; WISE y col., 1984; SCHOLZ y MIKHAIL, 1987). Otro método cruento consiste en medir, inmediatamente después del sacrificio, el volumen de ingestas, marcadas o no, que se encuentran entre los labios (WISE y col., 1984).

Las técnicas subjetivas valoran fundamentalmente la actitud del animal durante la ingestión del alimento. Todas las formas agresivas y ávidas de ingerir el alimento, que se asemejen a la forma en que lo hacía el animal cuando era joven (prerrumiante) en su alimentación con leche, son indicativo del cierre de la gotera. Sobre todo si los animales fueron entrenados durante el destete a alimentarse de una determinada forma (ROBINSON y col., 1977 a, ORSKOV, 1988).

El método de tinción con cristal violeta se considera como subjetivo ya que se basa en la valoración del grado de tinción de la mucosa abomasal frente a una escala del 0 al 5 previamente establecida por el autor. La administración de esta sustancia (20 ml, solución al 10%) y el posterior sacrificio del animal, permiten acceder al abomaso y valorar el grado de tinción de su mucosa y de su contenido (SMITH y col., 1977).

Conocido el patrón de distribución del estroncio administrado vía oral (5 mg/kg), se sabe que su concentración en rumen es máxima 30 minutos postingestión cuando la gotera no se ha cerrado. Así, determinando, por espectrofotometría de absorción atómica, la concentración de estroncio en el contenido ruminal extraído mediante una fístula, podemos determinar si ha tenido lugar (concentraciones muy bajas) o no (concentración máxima a los 30 minutos) el by-pass ruminal (HEDDE

y WARD, 1973; ROBINSON y col., 1977 a; ROBINSON y col., 1977 b).

La técnica del polietilenglicol-400 consiste en administrar el compuesto diluido con el alimento líquido (2-5%). La concentración del mismo, valorada por el método de Smith en muestras de líquido ruminal, obtenidas mediante fístula en las 6-7 horas siguientes a la ingestión, nos indica el porcentaje de líquido que ha caído a rumen (GUILHERMET y col., 1974; GUILHERMET y col, 1975).

El marcaje de las ingestas con salicilato sódico (5%; 10 ml/kg) y su inmediata detección en contenido abomasal nos indican el porcentaje de líquido que pasa directamente a abomaso (RUCKEBUSCH y KAY, 1971).

La determinación en plasma de azúcares se basa en el característico proceso que sufren los hidratos de carbono en el estómago de los rumiantes. Cuando estos principios inmediatos llegan a rumen, son transformados en ácidos grasos volátiles y absorbidos como tales a través del epitelio ruminal. Por ello, la glucemia no se afecta en estos animales tras las comidas. Sin embargo, cuando las ingestas se dirigen directamente a abomaso, los azúcares se absorben y sus niveles en sangre aumentan.

Éste es el fundamento de las técnicas de determinación del cierre de la gotera por "test de tolerancia a la glucosa" y a la xilosa. Se administra el azúcar vía oral (1g/kg en soluciones acuosas templadas de 1g/ml en vacas) y se determina la concentración de glucosa en plasma a tiempos regulares durante las 24-32 horas siguientes (SCHOLZ y MIKHAIL, 1987).

En caso de haberse cerrado la gotera, se observa un incremento del parámetro que se hace máximo a los 60 minutos para la glucosa (RIEK, 1954) y

entre 90 y 150 minutos para la xilosa (NICHOLSON, 1984). Estos métodos han sido utilizados por numerosos autores, bien solos (STANDAERT y col., 1978; ERGENE y NICHOLSON, 1986; BRUGÉRE y col., 1987 a; BRUGÉRE y col., 1987 b) o combinados entre sí o con otras técnicas (ROBINSON y col., 1977 a, CHAPMAN y col., 1986; SCHOLZ y MIKHAIL, 1987).

La radiología ha sido uno de los métodos físicos propuestos, ya sea ayudada o no de técnicas fotográficas. Se administra un marcador, generalmente bario (BaSO_4 ; 1/6 V/V), mezclado con el alimento y se realizan 3 radiografías seriadas: 2 laterales izquierdas y 1 dorso-ventral, o todas laterales derechas, dependiendo de los autores. Así, se comprueba si la ingesta se dirige a rumen o directamente a abomaso; indicando que la gotera se encuentra abierta o cerrada, respectivamente. A veces, cuando se encuentra cerrada, se puede ver el surco como una continuación radiopaca del esófago (ORSKOV y col., 1970 a y b; LAWLOR y col., 1971 b; THOMPSON y BLACK, 1978).

Algunos autores (CZEPA y STIGLER, 1930) comprobaron que cuando la gotera se cierra el bario no transpasa el orificio omaso-abomasal, por lo que no llega a alcanzar el abomaso.

También la observación se puede realizar mediante radioescopia, tras la administración del alimento con el contraste, tomando constancia de la progresión de la papilla mediante una cámara fotográfica, incorporada a un colimador de la imagen, que realiza fotografías seriadas (16/min) (KOPER y MUCHA, 1983). La escopia también se ha utilizado para comprobar el método radiográfico; en este caso, sin tomar evidencia fotográfica de ello (ORSKOV y BENZIE, 1969 a y b).

La cinerradiografía es una técnica combinada de cine, amplificación de la

imagen y radiología, que se suele unir al uso de marcadores metálicos (acero inoxidable) colocados en la mucosa de las zonas clave a estudiar. Así, se han determinado los movimientos secuenciales que tienen lugar durante la succión de líquidos en animales lactantes (KAY y col., 1972; NEWHOOK y TITCHEN, 1974).

El marcaje con sustancias radioactivas y la detección posterior de las mismas en distintos compartimentos se ha empleado también de muy diversas formas. Las sustancias pueden ser buscadas en sangre, como la glucosa-C14, en contenidos ruminal o/y abomasal, como el 5-Cr-E y el 103-Ru-P, o en las heces como el Ce141.

El método de la glucosa marcada con carbono 14 es similar al test de tolerancia a la glucosa, del que se diferencia en que el azúcar administrado oralmente está marcado y, por tanto, la cantidad de compuesto marcado que se detecta en sangre sólo puede provenir de la ingestión del mismo. Con ello, se evita la influencia de una posible hiperglucemia, ajena al cierre de la gotera, en el resultado positivo de la prueba (PRICHARD y HENNESY, 1981).

Otra forma consiste en marcar las fracciones solubles de suplementos alimenticios en prueba con 51-Cr-E (cromo con etilén-diamino tetra-acético) y las particular groseras de los mismos con 103-Ru-P (tris (1,10-fenantrolina) Ru(III) cloruro). La detección de las sustancias marcadas en muestras extraídas de líquido ruminal y abomasal, previa fistulización de ambos compartimentos, indica el estado de apertura o cierre de la gotera, respectivamente (MORGAN, 1978).

Para utilizar el método de marcaje con Ce141 hay que conocer previamente los patrones de excreción del cesio en rumiantes. Así, cuando este elemento se administra intrarruminalmente se elimina un 85 % por heces en las primeras 8 horas,

mientras, administrado intraabomasalmente, tarda 42 h en excretar el mismo porcentaje. En aplicación de estos datos, se mezcla el elemento marcado con el alimento y se detecta en heces a las 8 ó 42 horas, interpretando si la gotera se encuentra abierta o cerrada dependiendo del tiempo de excreción (MILLER y col., 1969).

Un método diferente a todos los anteriores, pero también de tipo físico, es el que utiliza termosensores, colocados en la mucosa del reticulorumen y del abomaso, para detectar el cierre de la gotera.

Se precisa de un patrón térmico, propio de cada animal, en el que se reflejen los incrementos de temperatura en ambos compartimentos cuando se introduce en ellos, vía intrarruminal o intraabomasal, distintos volúmenes de líquido a una temperatura determinada. Ello se cuantifica mediante el coeficiente térmico del reticulorumen (kr). Comparando estos patrones de kr con los valores obtenidos tras la administración oral de alimentos líquidos, se puede saber si éstos se han dirigido a rumen (gotera abierta) o a abomaso (gotera cerrada) (PARAGON y HACHET, 1980).

II.1.4.2.- Métodos para provocar el cierre de la gotera en adultos.

El control de la gotera reticular, de sus movimientos y, por tanto, de la distribución de las sustancias ingeridas en el complejo estómago pluricavitario de los rumiantes, es el objetivo principal de muchos de los trabajos revisados y también el nuestro. La mayoría de los esfuerzos se encaminan a encontrar la forma de cerrar la estructura aunque algunos autores también han estudiado las posibles formas de impedir su contracción.

Dentro de los métodos utilizados para cerrar la gotera distinguimos cuatro caminos principales:

- 1.- Por estímulo del reflejo condicionado.
- 2.- Por estímulo del reflejo bucofaríngeo.
- 3.- Mediante administración de sales minerales:
 - 3.1.- Sales de sodio.
 - 3.2.- Sales de cobre.
 - 3.3.- Sales de cinc.
- 4.- Mediante administración de fármacos:
 - 4.1.- Vasopresina y otros extractos posthipofisarios.
 - 4.2.- Benzimidazol carbamatos.
 - 4.3.- Derivados N-aril-antranílicos.
 - 4.4.- Agonistas muscarínicos.

Algunos autores opinan que el estímulo mecánico tiene poca importancia frente al "ansia por succionar" (ORSKOV y BENZIE, 1969 a) y, para ello, el reflejo condicionado parece ser uno de los métodos más eficaces, aunque precisa de adiestramiento previo de los animales y creación de un "comportamiento succionador".

El manejo, desde el nacimiento del rumiante, debe instaurar dos formas distintas de alimentación: una de ellas debe ir ligada a la administración de leche en el período prerrumiante y la otra, a la administración de dieta sólida. El animal debe asociarlas y, para que el reflejo de cierre se mantenga, el cuidador debe "recordar", mediante nuevas administraciones y cada determinados periodos de tiempo (cada 1 ó 2 días en adultos) durante toda la vida.

Cuanto más fuertemente gravado esté el condicionamiento y con más frecuencia se repita, mayor facilidad hay para reproducir el cierre del surco esofágico, cuando el cuidador quiera, a lo largo de toda la vida del animal (ORSKOV, 1975; ORSKOV, 1988).

Algunos autores identifican el mantenimiento del reflejo de cierre con el "apetito por la leche", y mantienen que puede permanecer hasta 4 años en ovejas (CHAPMAN y col., 1986).

El procedimiento descrito provoca la ingestión ávida del alimento, con movimientos similares a los del animal joven al ingerir la leche. Por ello, algunos autores han utilizado la sed (privación de agua durante 10-12 h como mínimo) como estimulante del reflejo, ya que también provoca avidez e incluso violencia en la ingestión de los líquidos (STANDAERT y col., 1978; BRUGÉRE y col., 1987 c; MIKHAIL y col., 1988).

Además de provocar una ingestión más ávida del agua, con la privación de agua durante 48 h se provoca un aumento de los niveles plasmáticos de vasopresina plasmática igual a 3 veces los valores fisiológicos (MIKHAIL y SCHOLZ, 1987).

El reflejo bucofaríngeo se puede provocar mediante el sondaje directo; la sonda, al estimular los receptores de la faringe y paladar, inicia el reflejo y se cierra la gotera, por lo que, al seguir progresando, la sonda entra directamente en abomaso (CHAPMAN, 1986).

En cuanto a las sales utilizadas, principalmente las de sodio y cobre, tanto por vía oral como intravenosa, se han obtenido porcentajes de eficacia muy variables que difieren entre especies. Parece ser que las soluciones de sales de sodio, principalmente las de pH muy elevado, son más efectivas en bóvidos y las de cobre en pequeños rumiantes (CHURCH, 1974, AITKEN y SANFORD, 1975).

Así, algunos autores recomiendan dosis de cloruro sódico de 1,5 ml (solución al 1,5%) intravenosa ó 10,5 ml (solución saturada) vía oral (MIKHAIL y col., 1988), otros ofrecen mayor eficacia, 93%, con 60 ml (solución al 10%) de bicarbonato sódico vía oral, mientras con 60 ml de cloruro o de bicarbonato sódico (solución al 10% y 5%, respectivamente) la eficacia es del 80% (RIEK, 1954, DOBSON, 1967).

Aunque para algunos autores las sales de sodio no tienen efecto alguno (ORSKOV y BENZIE, 1969 b) y para otros, los resultados obtenidos son mediocres, comparados con otros métodos (SCHOLZ y MIKHAIL, 1987), la tónica general es que el ión sodio tiene una acción probada, positiva, sobre el cierre de la gotera, cuya eficacia depende de la naturaleza del anión que le acompaña (RIEK, 1954).

Por otra parte, el ión cúprico, en forma de sulfato de cobre parece tener resultados mediocres, con un bajo porcentaje de eficacia en bóvidos (MILLER y col., 1969; VAN WYK y col., 1984; SCHOLZ y MIKHAIL, 1987), aunque, en ovejas, bastan 10 ml de CuSO_4 (10%) para conseguir el cierre (TSIAMITAS y BRIKAS, 1981). El ión cinc parece ser que también tiene actividad estimulante, con eficacia en ovejas, dependiente de la concentración, similar a la del cobre (SMITH y col., 1977).

Dentro de los fármacos que pueden cerrar la gotera en animales adultos, la vasopresina y otros extractos posthipofisarios parecen ser los más eficaces; su acción, tras administración intravenosa, está comprobada en cabras (BRUGÉRE y col., 1987 b; BRUGÉRE y col., 1987 c). Las dosis recomendadas oscilan entre 0,03 U.I./kg (SCHOLZ y MIKHAIL, 1987) y 0,5 U.I./kg (MIKHAIL y col., 1988), a partir de una solución de 20,9 U.I./ml. Sus efectos son contundentes y se prolongan durante 10-15 min aunque la contracción de la gotera puede interrumpirse por excitación o manipulación del esófago (SCHOLZ y MIKHAIL, 1987 a y b; MIKHAIL, 1987).

Sólo hemos encontrado una referencia en la que la administración de vasopresina (e.v.) no produzca cierre neto de la gotera. A las dosis utilizadas (0,03; 0,05 y 0,08 UI/kg) sólo se consiguieron porcentajes bajos de cierre (40 y 25), comprobados por los test de glucemia y de xilemia (van WEEREN-KEVERLING BUISMAN y col., 1990).

La administración intravenosa de estas sustancias produce inhibición de la motilidad de los proventrículos, muy potente a nivel del retículo-rumen, con retorno gradual a la normalidad y más leve y duradera en el abomaso (BRUGÉRE y col., 1987 b; MIKHAIL y ZITTLAU, 1988).

Los niveles fisiológicos de vasopresina intrínseca en la vaca son $1,85 \pm 0,6$ pg/ml (MIKHAIL y SCHOLZ, 1987) y con administración de Lys-vasopresina (0,08 U.I./kg, e.v.), ascienden a 65 pg/ml durante al menos 15 min después de la administración para volver a la normalidad a las 3 h (MIKHAIL, 1987).

El mecanismo íntimo, tanto de la inyección de vasopresina como la de ciertas sales intravenosas, se cree que se debe a la acción de la vasopresina (exógena o endógena, respectivamente), que también produce bradicardia y postración. Por ello estos métodos no son recomendados por algunos autores para conseguir el cierre de la gotera (MIKHAIL y col., 1988).

También se ha intentado provocar el cierre de la gotera en ovejas mediante sustancias análogas a la vasopresina, con acciones específicas: desmopresina, que actúa principalmente sobre el control hídrico del organismo y glypresina, de acción primordialmente cardiovascular. Con ninguna de ellas se han obtenido buenos resultados sobre la actividad de la gotera (VINCKIER y DEBACKERE, 1991).

Con los benzimidazol carbamatos, cuya errática acción se ha atribuido al by-pass ruminal, sólo se ha encontrado un 42 % de eficacia en el cierre. Esto explica su comportamiento farmacológico, pero no los convierte en sustancias eficaces para cerrar la gotera reticular (PRICHARD y HENNESY, 1981).

La acción de los derivados del ácido N-aril-antranílico sobre la gotera no está comprobada. Se apunta la posibilidad de que este caso se explique por la acción del ión sodio que acompaña a algunos de estos compuestos. Así, el meclofenamato sódico presenta concentraciones sanguíneas, tras administración intrarruminal, iguales a las del ácido meclofenámico administrado oralmente. Sin embargo, la administración oral de la sal produce concentraciones en sangre muy superiores a las

alcanzadas por la forma ácida vía oral (AITKEN y SANFORD, 1975).

Se conoce el efecto de refuerzo de los agonistas muscarínicos sobre el cierre de la gotera en animales prerrumiantes, si bien no se ha determinado si estos fármacos son capaces por sí solas de producir el cierre en adultos (RUCKEBUSCH, 1983).

En los casos en que interese evitar el cierre, se sugieren: anticolinérgicos (atropina, 0,8 mg/kg, intravenosa), estimulantes adrenérgicos (adrenalina 40 ng/kg, intravenoso), o dopamina, con el inconveniente de la posible paralización conjunta del reticulorumen; los anestésicos locales en cavidad bucal y faríngea, con el fin de evitar la producción del mecanismo reflejo: la intubación torácica, que se introducirían los líquidos directamente en rumen (NEWHOOK y TITCHEN, 1970; COOKE y NICHOLSON, 1981; RUCKEBUSCH, 1983).

II.2.- MECLOFENAMATOS.

El ácido meclofenámico es un fármaco antiinflamatorio no esteroideo (AINE) del tipo de los salicilatos, de relativa novedad, sintetizado en 1965 por Winder y cols. (WINDER y col., 1966).

Es un derivado del ácido antranílico, con sustituciones en las posiciones 2,3 y 6 del anillo no carboxílico, que se encuentra englobado en el grupo denominado de los ácidos fenámicos, junto a los ácidos mefenámico y flufenámico. Su nombre y estructura químicos completos aparecen en la FIGURA II.5.

Se conocen tres formas químicas: ácida, sal de sodio y sal de calcio (esta última dihidratada). El ácido se presenta en forma de cristales y las sales como polvo blanco. Las propiedades físico-químicas más importantes aparecen en la TABLA II.1.

Se puede sintetizar tanto por el método de condensación de Ullman-Goldberg como por el método de condensación con (2-carboxifenil)feniliodo (KALTENBRONN y col., 1983).

Las sustituciones en posiciones 2,3 y 6 colocan a este compuesto entre los más activos de los derivados tri-sustituídos del ácido antranílico. Además, la posición de sus radicales hace que este compuesto presente escasa absorbancia a 285 nm (longitud de onda a la que los derivados N-antranílicos presentan generalmente buena absorción) y sin embargo, presenta un pico desplazado a 226 nm y otro, de menor magnitud a 250 nm ((KALTENBRONN y col., 1983).

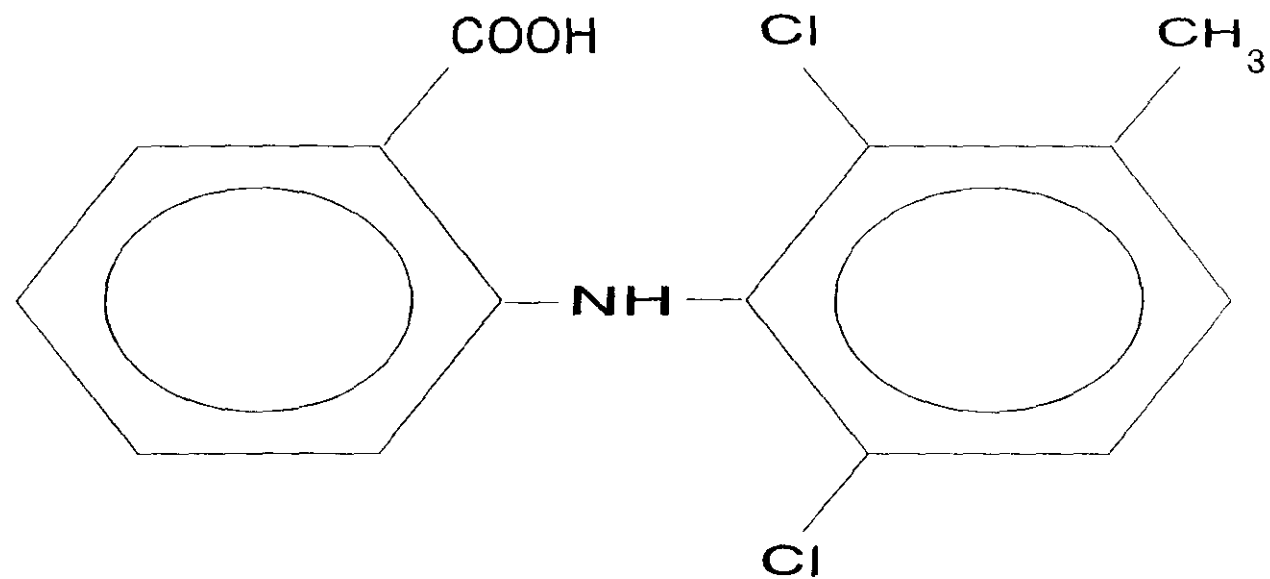


FIGURA II.5.- Fórmula desarrollada del ácido meclofenámico (ácido N-(2,6-dicloro-3-metil-fenil)benzoico).

	ACIDO MECLOFENAMICO	MECLOFENAMATO SODICO	MECLOFENAMATO CALCICO (x 2 agua)	
PESO MOLECULAR	296,15	316,15	333,23	-
PUNTO EBULLICION	225-259	289-291	-	(°C)
pKa	4	3,2	-	-
SOLUBILIDAD (agua)	-	> 250	-	(mg/ml) (25°C)
SOLUBILIDAD (pH=6)	< 0,003	-	-	(mg/ml) (25°C)
SOLUBILIDAD (pH=7)	< 0,03	< 0,03	< 0,03	(mg/ml) (25°C)
SOLUBILIDAD (pH=8)	0,2	15,0	-	(mg/ml) (25°C)

TABLA II.1.- Propiedades físico-químicas de los meclofenamatos (WINDER y col., 1966; KALTENBRONN y col., 1983; INDEX MERCK, 1989).

Relación estructura-actividad.

No está totalmente aceptada la existencia de relación estructura-actividad en este tipo de fármacos (AINE en general) aunque varios autores han hecho propuesta de un receptor hipotético al cual deberían unirse químicamente estos compuestos para poder desempeñar su actividad farmacológica.

Scherrer y col. en 1964 propusieron un modelo de receptor para los ácidos N-aril antranílicos, semejante al propuesto por Shen, en 1965, para la indometacina y sus derivados y al de Kelttenbronn, en 1977, para el ácido arilnaftalenacético (KALTENBRONN y col., 1983).

El modelo de receptor presentaría un área plana en la que se instalaría el anillo aromático, un canal en el que se acomodaría un radical lineal plano y al otro lado del área plana, en disposición para respecto al canal, un lugar de unión catiónica (KALTENBRONN y col., 1983).

II.2.1.- Actividad farmacológica.

Los meclofenamatos, como la mayoría de los AINE presentan la triple actividad: antiinflamatoria, analgésica y antitérmica.

La acción analgésica es moderada o media, con actividad algo menor que el ácido acetil salicílico aunque puede ser más potente. Por ello son eficaces frente a dolores somáticos de mediana intensidad y tegumentarios, no viscerales.

El origen de su actividad los libera de producir modificaciones sensoriales y de percepción; no producen ni sedación ni excitación. Aunque se duda de su posible acción a nivel central.

Son efectivos en dolores periféricos (articulares, musculares, dentarios, ...) y, a dosis elevadas, en dolores post-operatorios o post-traumáticos.

Su actividad antitérmica está probada, aunque a dosis elevadas pueden producir aumento de temperatura como consecuencia de sus efectos metabólicos (aumento del metabolismo y del consumo de oxígeno) (SERRANO y SERRANO, 1993).

Como antiinflamatorios reducen tanto la permeabilidad vascular como el edema, el dolor y la congestión local en los procesos agudos. En las inflamaciones crónicas y reumáticas son más eficaces al comienzo de la enfermedad (donde los eicosanoides tienen un papel más importante) ya que son incapaces de controlar el curso de la enfermedad ni de evitar la aparición de lesiones en los tejidos (corazón, vísceras, articulaciones). Sí colaboran en el control de la difusión del proceso inflamatorio.

Las potencias relativas inhibitoria de prostaglandinas, antiinflamatoria, antipirética y antigranulocitaria del ácido meclofenámico administrado por vía oral frente a la fenilbutazona se probaron respectivamente por diferentes test (TABLA II.2).

Dentro de los efectos farmacológicos del meclofenamato sódico observados se destacan la disminución de la broncoconstricción anafiláctica en cobaya así como la producida por SRS-A en humano (BURKA y EYRE, 1977 b), la reducción del aumento de la frecuencia cardíaca y de la inhibición de la motilidad rumino-reticular producidas por la bradiquinina en cabras (2 mg/kg P.V., e.v.). In vitro se ha observado que antagoniza los fenómenos contráctiles de la bradiquinina sobre el músculo liso ruminal en cabras (10 ug/ml) (VEENENDAAD y col., 1980).

Además de estas actividades farmacológicas generales tienen otras acciones que se encuentran implicadas en la producción de efectos secundarios.

A nivel gastrointestinal pueden producir lesiones de intensidad variable que cursan con alteraciones de las mucosas gástrica y duodenal. En animales monogástricos estas lesiones aparecen en un 5-25% de los casos y son más frecuentes en la zona del antro pilórico. Las acciones sobre riñón son evidentes en animales con alteraciones renales previas en los que las prostaglandinas (I_2 y E_2) actúan como protectores.(FLOREZ, 1992).

	ACIDO MECLOFENAMICO	ACIDO MEFENAMICO	ACIDO FLUFENAMICO
INHIBICION DE PG	73,3	4,4	3,1
ANTIINFLAMATORIA	23,0	1,0	13,0
ANTI-ERITEMA U.V.	13,0	0,5	1,6
ANTIPIRETICA	>20,0 (25,0)	1,0 (2,7)	>1,0 (8,7)
ANTIGRANULOCITOSIS	14,0 (15,0)	0,6	3,6 (3,2)

TABLA II.2.- Potencias relativas de tres fenamatos frente a la fenilbutazona, atendiendo a: Potencia de inhibición de prostaglandinas. Potencia antiinflamatoria en rata. Potencia anti-eritema, provocado por radiación U.V. en cobaya. Potencia antipirética, por inducción con sustancias pirógenas en rata. Potencia antigranulocitaria en ratas. (WINDER y col, 1966; KALTENBRONN y col., 1983).

II.2.2.- Mecanismo de acción.

Todas las células de los animales mamíferos (excepto los eritrocitos) tienen la capacidad de sintetizar prostaglandinas en sus microsomas como respuesta y defensa a una agresión externa. La síntesis se realiza como consecuencia del estímulo, ya que en el interior de ninguna célula se han encontrado depósitos de prostaglandinas.

Esta síntesis se realiza a partir del ácido araquidónico, como se indica en la FIGURA II.6. Los meclofenamatos, igual que el resto de los AINE, actúan sobre la enzima ciclooxigenasa, inhibiendo sólo una rama de síntesis de eicosanoides. Por tanto, inhibe la síntesis de prostaglandinas, tromboxanos y prostaciclina, dejando disponible la vía de transformación del ácido araquidónico a leucotrienos mediante la acción de la lipooxigenasa (MITCHEL y col., 1990).

Además, el ácido meclofenámico tiene capacidad de antagonizar algunas prostaglandinas a nivel de receptores en su lugar de acción, propiedad que no poseen otros AINE (McLEAN y GLUCKMAN, 1983).

Algunos autores ponen en duda la inexistencia de acción del meclofenamato sódico sobre la enzima lipooxigenasa, basándose en la potente acción antiinflamatoria de este fármaco, particularmente sobre la quimiotaxis inflamatoria (McLEAN y GLUCKMAN, 1983).

El mecanismo íntimo de la inhibición del enzima consiste en impedir la sustracción del hidrógeno del carbono 13 del ácido araquidónico, bloqueando la peroxidación de los carbonos 11 y 15. El resultado es una inhibición competitiva y estereoespecífica. Además, a diferencia de otros AINE y de otros fenamatos, el

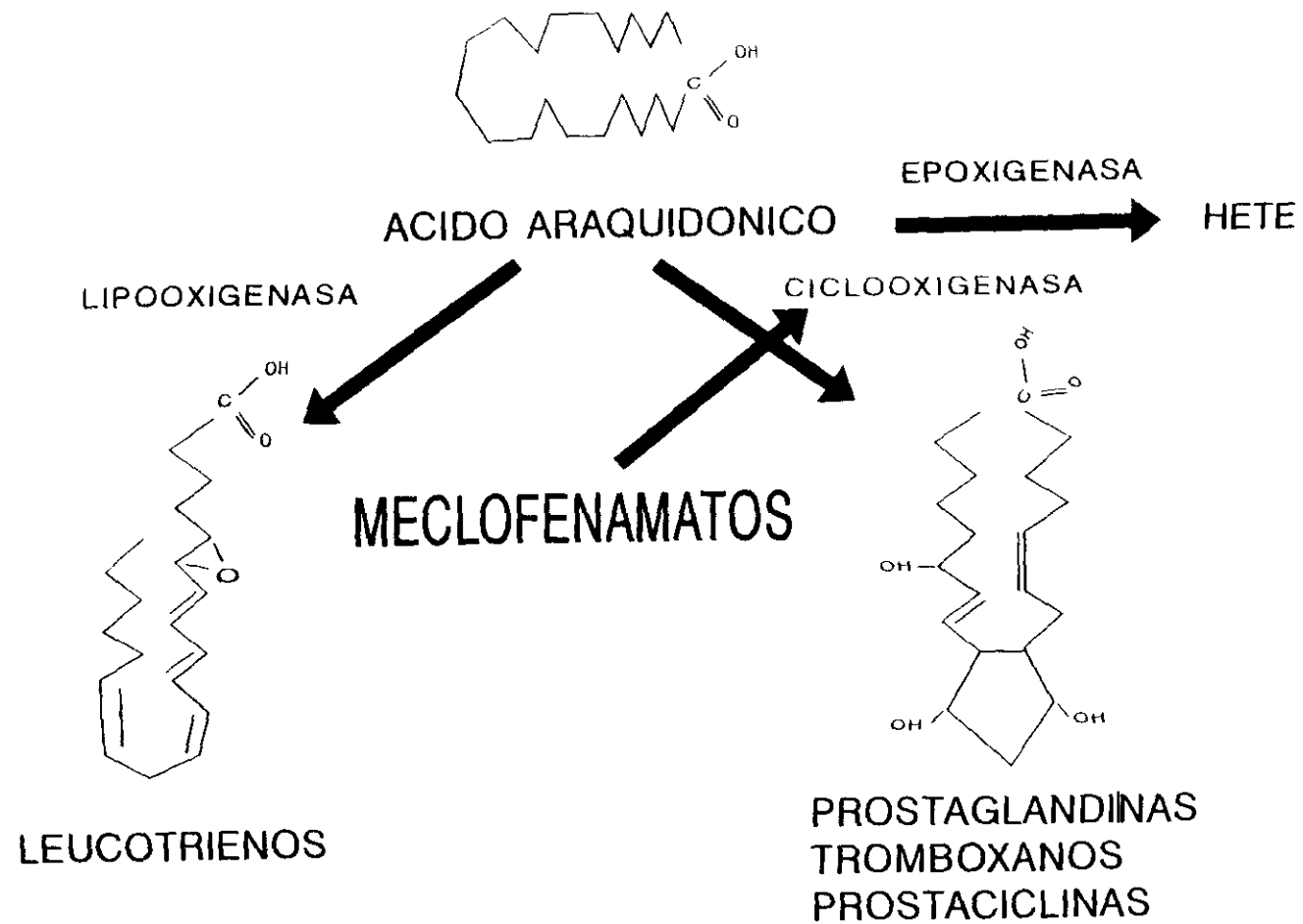


FIGURA II.6.- Mecanismo general de acción de los meclufenamatos (SERRANO y SERRANO, 1993).

ácido meclofenámico presenta una inhibición irreversible (McLEAN y GLUCKMAN, 1983).

No obstante, se cree que los meclofenamatos y, en general, todos los AINE pueden actuar a otros niveles ya que su potencia de inhibición de síntesis de prostaglandinas no presenta correlación con las potencias antiinflamatoria, antiálgica, migración leucocitaria, antitérmica, ... No obstante, esta falta de relación directa puede deberse en parte a la diversidad de la distribución y penetración de estos compuestos en los distintos tejidos.

Algunos de estas acciones paralelas tienen caracter bioquímico; en general, inhiben el metabolismo intermediario al impedir la formación de ATP necesario para muchas reacciones, entre ellas las que tienen lugar durante la respuesta inflamatoria. También pueden afectar a las proteínas y al ARN de los linfocitos disminuyendo la respuesta inmune.

El mecanismo de acción por el que interfieren el mecanismo de la inflamación se debe tanto a la actividad anticiclooxigenasa como a la interferencia en la actividad de los neutrófilos (FIGURA II.7).

Como consecuencia de la primera se reduce la actividad vasodilatadora y quimiotáctica de prostaglandinas y tromboxanos en el foco inflamatorio y se reduce la actividad sensibilizadora que estos mediadores producen sobre las terminaciones nerviosas sensitivas.

Ya que en la inflamación existen otros mediadores químicos, derivados y no derivados del ácido araquidónico, la acción de los meclofenamatos es limitada. Esta limitación se acentúa en las inflamaciones crónicas en las que los mediadores

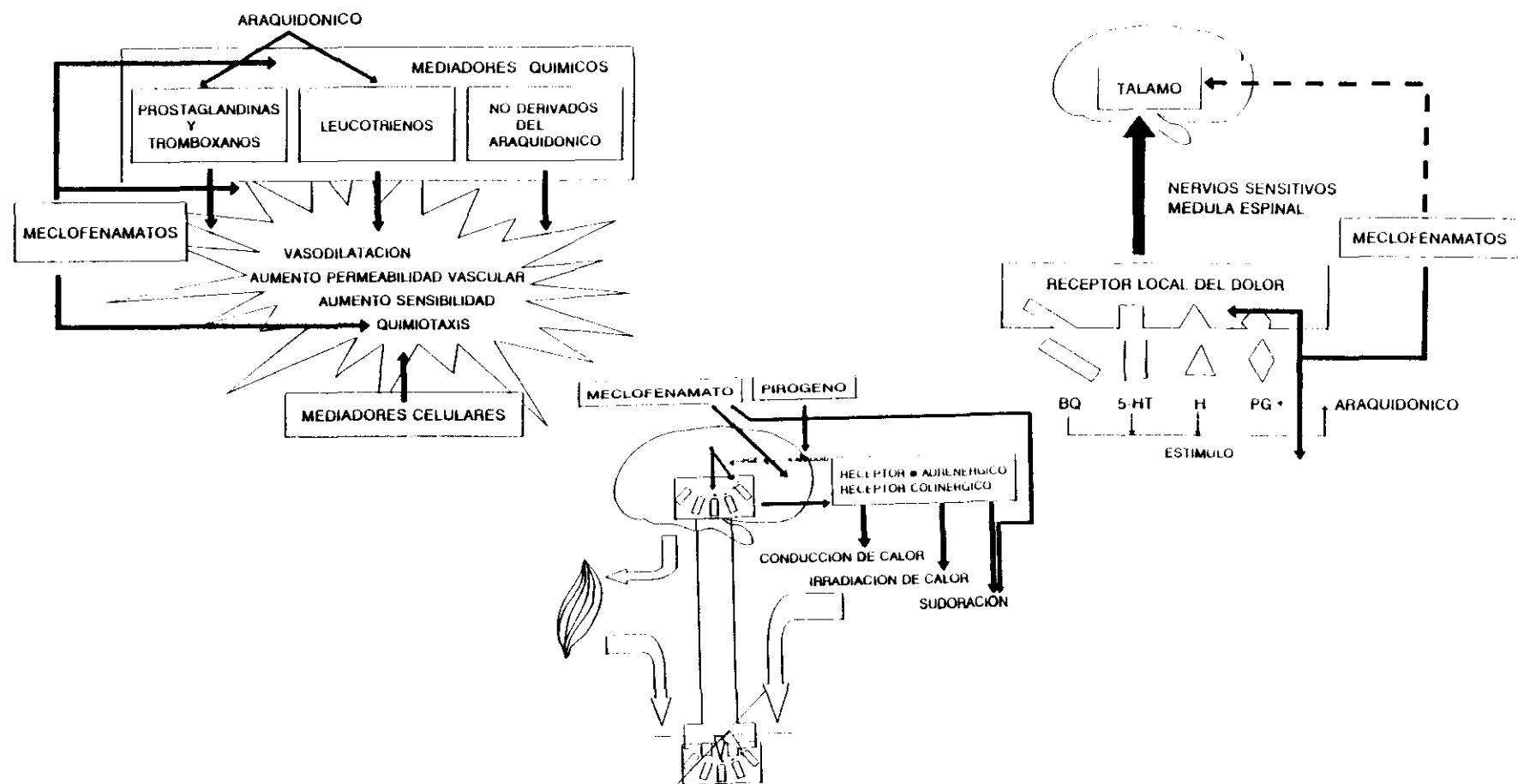


FIGURA II.7.- Mecanismos de acción antiinflamatoria, antipirética y analgésica de los meclofenamatos.

celulares tienen más importancia que los químicos.

La actividad de los meclofenamatos sobre los neutrófilos se produce a nivel de interferencia del metabolismo de nucleótidos, de la actividad de la fosfolipasa A₂, alteraciones de la membrana liposomal, de los receptores de la membrana plasmática, ... Todo ello afecta a las capacidades de adhesión, agregación, quimiotaxis, fagocitosis y degranulación de los neutrófilos.

La acción analgésica de los meclofenamatos tiene origen periférico fundamentalmente, aunque no se descarta también un mecanismo central a nivel del tálamo (FIGURA II.7).

La acción periférica se debe completamente a la acción anticiclooxigenasa que afecta al proceso doloroso de cuatro formas distintas: ausencia de acción de prostaglandinas en el foco inflamatorio, reducción de la acción de histamina, serotonina y bradiquinina (por ausencia de la sensibilización de los receptores dolorosos a estos mediadores), ineficacia del estímulo de otros mediadores sobre la síntesis local de prostaglandinas y efecto bloqueante directo de los fenamatos sobre los receptores dolorosos locales frente a las PG (DAWOOD, 1988).

La diversidad de estas acciones hacen que los meclofenamatos lleguen a ser analgésicos más potentes que la aspirina. Además, pueden actuar localmente en algunos tejidos en los que otros AINE no actúan, como es el caso del útero, donde presentan una efectividad del 80% como consecuencia de su acción sobre las PGF_{2α} y PGE₂ y puede abolir los efectos producidos por oxitocina en el útero de la cabra durante 50-100 minutos (COOKE y KNIFTON, 1980). Los salicilatos son incapaces de actuar sobre la síntesis de estas prostaglandinas en útero y por ello, los fenamatos tienen importancia en terapéutica humana en el tratamiento de dismenorreas (CHAN,

1983).

La acción antitérmica de los AINE tiene origen central y periférica, aunque ésta de menor importancia (FIGURA II.7). Por ello, sólo pueden actuar cuando los aumentos de temperatura corporal se deben a mecanismos centrales y no a factores externos (aumentos de temperatura ambiental, ejercicio excesivo, administración de PG, ...).

La temperatura corporal, en los animales homeotermos, está regulada por la acción continuada del área preóptica del hipotálamo que actúa por medio de mecanismos locales de acuerdo a la información recibida de los receptores de calor y frío distribuidos por todo el organismo.

Cuando aparece una sustancia pirógena en el organismo, ésta provoca la síntesis de PGE_2 en el hipotálamo. Esta prostaglandina actúa a nivel local impidiendo que la región preóptica responda a los estímulos caloríficos recibidos. Los meclofenamatos pueden frenar la inhibición del centro preóptico mediante la inhibición de síntesis y liberación de PG a nivel de hipotálamo.

Además, tienen una acción periférica vasodilatadora y aumentan la sudoración, con lo que colaboran a la pérdida de calor.

II.2.3.- Farmacocinética.

Los estudios farmacocinéticos realizados con ácido meclofenámico se han llevado a cabo principalmente en el hombre y en el caballo ya que son las especies en las que más se utiliza,. Existen también algunos trabajos en rumiantes, más extensos en vacas que en ovejas y cabras.

En general, el ácido meclofenámico no se puede administrar como tal por vía endovenosa, pero sí su sal sódica, más soluble en agua (BOOTH, 1982). Por vía oral existen preparados farmacéuticos en ambas formas: ácida (ARQUEL, Parke-Davis) y salina (MECLOMEN, Parke-Davis), que es como se administra en la práctica terapéutica en équidos.

Por vía oral, en animales monogástricos, presente una absorción rápida y buena, aunque no tanto como otros AINE (SERRANO y SERRANO, 1993). La absorción se produce en el estómago y el duodeno donde el pH ácido favorece su paso por difusión pasiva, ya que los meclofenamatos tienen un $pK_a=3,6$.

Cuando el pH del medio digestivo aumenta (dentro de la acidez) se producen dos efectos que compensan su absorción: por una parte, disminuye el porcentaje de fármaco ionizado y la absorción decrece y, por otro lado, aumenta la solubilidad del producto, lo que favorece el paso a través del epitelio.

La conjunción de los pH del medio intracelular (básico), del interior del estómago (ácido) y del pK_a del ácido meclofenámico hacen que este fármaco penetre con mucha facilidad en las células del epitelio de estas zonas digestivas, originando cuadros de toxicidad gastrointestinal. Por ello, se han estudiado preparados farmacéuticos tamponizados que impidan la aparición de efectos secundarios, a

expensas de las repercusiones que ello pueda tener en la biodisponibilidad del preparado (FLOREZ, 1993).

Los niveles plasmáticos máximos conseguidos tras administración oral en humana (300 mg/día, dosis única) fueron 15,1 $\mu\text{g/ml}$ a las 1,1 h y en caballo (2,2 mg/kg, dosis única), ligeramente superiores a 1 $\mu\text{g/ml}$ a las 1-4 h (FLOWER y MONCADA, 1982; KOUP y col., 1990). No obstante, a pesar de la precocidad de las concentraciones máximas, el comienzo de la acción en équidos es tardío (36-96 h), lo que ha reducido bastante su utilización en procesos agudos en esta especie (BOOTH, 1982).

La administración continuada, durante 14 días del ácido meclofenámico en el hombre (100 mg/8h) resultaba en niveles plasmáticos máximos de 4,8 $\mu\text{g/ml}$ que se conseguían 0,9 h post-administración.

En sangre se encuentra fuertemente ligado a proteínas plasmáticas (99%), principalmente a albúmina, a la que se une de forma fácilmente desplazable (FLOREZ, 1992).

La distribución de los meclofenamatos es buena; se realiza por difusión pasiva dependiente del pH. Pasan de sangre a líquido sinovial, leche, saliva y atraviesan las barreras placentarias y hemato-encefálica (SERRANO y SERRANO, 1993).

El metabolismo se ha estudiado con más profundidad en la especie humana, en la que se han encontrado 5 metabolitos principales en orina. El primero supone un 50-60% de la excreción urinaria del fármaco, tiene una acción farmacológica igual a 1/5 la del ácido meclofenámico y se produce por hidroxilación del grupo

metilo y conjugación con ácido glucurónico. El segundo es un ácido carboxílico inactivo (3-5%). Otros dos metabolitos surgen de la hidroxilación cíclica seguida de conjugación con ác. glucurónico (5-7% y 3-6%). Del último se desconoce su fórmula química, aunque se sabe que se produce por deshalogenación cíclica e hidroxilación (35-45%).

Se han estudiado las concentraciones de estos metabolitos en plasma durante tratamientos por vía oral de dosis únicas y dosis múltiples en voluntarios, observando que las concentraciones del metabolito 1 son comparables e incluso mayores que las del propio ácido durante todo el experimento y que presentan picos máximos a tiempos similares a los del fármaco en sí (KOUP y col., 1990).

La eliminación se realiza por heces y orina, principalmente metabolizado (<6% en forma original), donde puede encontrarse hasta 96 h después de la administración oral de dosis múltiples en caballo (2,2 mg/kg/día, 5-7 días). Con este régimen teraapéutico la semivida en équidos del fármaco es de 6-8 h. En el hombre, administrado también vía oral (100 mg/8h, 14 días), la semivida es 1,2 h, y de 1,4 h si se administra una dosis única (300 mg/día) (KOUP y col., 1990; BOOTH, 1982).

Las variaciones observadas en los parámetros cinéticos del ácido meclofenámico administrado por vía oral en équidos se pueden deber a la unión del fármaco al heno y a la ingesta que toma el animal. Esta unión, menor que la que sufre la fenilbutazona, pero mayor que la de otros AINE, depende del tiempo de contacto, de la concentración del fármaco y del pH del contenido digestivo (SULLIVAN y SNOW, 1982; LEES y col., 1988 a).

En rumiantes, la administración intravenosa de meclofenamato sódico (2

mg/kg) no presenta grandes variaciones frente a monogástricos. En terneros la curva de concentración plasmática-tiempo tiene una primera fase, de distribución, con una semivida de 20 min y otra segunda, de eliminación, con semivida de 4 h.

A los 5 minutos de la administración se presenta una concentración media de 8,8 $\mu\text{g/ml}$ (10 veces mayor que la encontrada para el pico máximo tras administración oral con la misma dosis) (AITKEN y SANFORD, 1975 a).

La administración intramuscular de meclofenamatos (20 mg/kg/día, 4 días) a vacas producía un pico de concentración máxima antes de los 15 min de la administración, mayor a 9 $\mu\text{g/ml}$ el primer día y de 6 $\mu\text{g/ml}$ aproximadamente el resto de los días del tratamiento (MARRINER y BOGAN, 1979).

En la misma especie, por vía oral (20 mg/kg), los niveles plasmáticos presentaban 2 picos, uno a los 30 min y otro a las 6-8 h de administración, con valores medios alrededor de 3 $\mu\text{g/ml}$. A las 24 h los niveles plasmáticos habían descendido por debajo de los terapéuticos (2 $\mu\text{g/ml}$).

En ovejas la administración oral de meclofenamato sódico (20 mg/kg) también originaba un patrón bifásico de concentraciones plasmáticas. El primer máximo a los 40 ó 60 min (dependiendo de los autores) y un segundo pico, de mayor duración aunque de menor altura a las 2,5 h (COOKE y NICHOLSON, 1981) o a las 5 h (MARRINER y BOGAN, 1979).

En terneros sin destetar, con la misma dosis se obtenía un pico plasmático único a los 30 min postadministración, de 9-10 $\mu\text{g/ml}$. Después las concentraciones descendían progresivamente hasta las 24 h (2,5 $\mu\text{g/ml}$) para desaparecer aproximadamente a las 48 h (MARRINER y BOGAN, 1979).

En las curvas de niveles plasmáticos frente a tiempo, tras administración intrarruminal por cánula a vacas adultas (10 mg/kg), desaparecía el pico de los 30 min y el segundo máximo aparecía más tarde (8-12 h) (AITKEN y SANFORD, 1975 b).

Con la administración por vía oral (10 mg/kg/día) en dos tomas diarias, durante varios días de meclofenamatos a ovejas se consiguen niveles plasmáticos medios mantenidos entre 0,2 y 0,6 $\mu\text{g/ml}$ (MITCHELL y col., 1990).

Se han probado pautas de tratamiento consistentes en administraciones conjuntas de meclofenamato sódico por vía endovenosa (2 mg/kg) y vía oral (10 mg/kg) para intentar conseguir, con cierto éxito, niveles plasmáticos terapéuticos sostenidos. Las concentraciones de fármaco en plasma caían rápidamente durante la primera hora hasta 4 $\mu\text{g/ml}$ aproximadamente y se mantenían por encima de 3 $\mu\text{g/ml}$ durante las siguientes 11 h. A las 24 h los niveles descendían a 1-1,5 $\mu\text{g/ml}$ de forma lenta (AITKEN y SANFORD, 1975 a).

II.2.4.- Toxicidad y efectos adversos.

Los meclofenamatos, al igual que los otros fármacos derivados del ácido antranílico, produce, a dosis elevadas, principalmente alteraciones gastrointestinales y de forma menos intensa, alteraciones hepáticas y renales. Por ello, su uso está contraindicado en aquellos animales que presenten patologías que interesen a estos órganos.

Las lesiones gastrointestinales consisten en inflamación de la mucosa que se transforma en erosión y perforación, originando peritonitis. Ello provoca diarreas que llegan a ser sanguinolentas con el avance de la lesión. En caballos que presenten una infestación masiva por *Gastrophilus* spp. se puede presentar un cólico leve con diarrea (BOOTH, 1982).

La localización de estas lesiones dentro del aparato digestivo varía con la especie animal; en rata, el intestino delgado es la zona más afectada, mientras en el perro es el píloro y en el mono, el colon. Además, en esta última especie la lesión no llega a perforar la pared intestinal incluso tras 12 semanas de administración diaria del fármaco (100 mg/kg/día).

Las lesiones están acompañadas de anorexia y ocasionalmente vómitos, que pueden aparecer inmediatamente después de la administración, antes que las lesiones.

Como consecuencia de la pérdida de sangre se produce anemia normoblástica con leucopenia, deshidratación y bajada de la concentración total de proteínas plasmáticas. Pueden aparecer casos de anemia aplástica en perro, pero no parecen estar relacionados con los trastornos digestivos (WEISS y KLAUSNER, 1990).

Los daños hepáticos aparecen en 4 días y sólo cuando se administran dosis muy elevadas. Consisten en degeneración hidrópica que provoca un aumento de las concentraciones de transaminasas y la caída de los niveles de colesterol y fosfatasa alcalina en plasma.

Las lesiones renales afectan tanto a médula como a corteza y varían ligeramente con la especie. En general aparece edema glomerular y pielonefritis, a veces se dilatan los túbulos colectores y aparece edema intersticial con infiltración linfocitaria.

Todos estos signos se han observado administrando meclofenamato sódico por vía oral, a diferentes dosis, durante periodos de 12-14 semanas. Los síntomas de toxicidad dependían de la magnitud de la dosis administrada, apareciendo algunos de ellos solamente con dosis elevadas (KAUMP, 1966).

En équidos, la administración durante 42 días seguidos de meclofenamato sódico por vía oral a las dosis terapéuticas recomendadas (2,2 mg/kg/día) no produce síntoma alguno de toxicidad (BOOTH, 1982). Tampoco se han encontrado signos clínicos adversos tras la administración de meclofenamato sódico (2,2 mg/kg/día, 15 días + 7 días 2,2 mg/kg/2veces/día) en la misma especie; sólo se apreció un ligero descenso de proteínas plasmáticas que no se asoció a la patología gástrica (SNOW y col., 1983).

Las reacciones de hipersensibilidad y las hematológicas son poco frecuentes, pero con los fenamatos en general aparecen más que con otros AINE. Están descritas en el hombre, las primeras con manifestaciones respiratorias (asma, rinitis, congestión nasal, ...) y cutáneas (erupciones, urticarias, fotodermatitis, ...) y las segundas con diversas formas: cuadros hemorrágicos, agranulocitosis, anemias

aplástica y hemolítica,... En perros también se han descritos casos de anemia aplástica (WEISS y GLUSNER, 1990).

Se han realizado pruebas en rata y ratón de toxicidad aguda por vías oral e intraperitoneal y pruebas subcrónicas vía oral durante 7 días en ratas.

No obstante, los datos de toxicidad hay que interpretarlos en relación con la potencia del fármaco. Así, Winder y col. (1966) relacionaron la potencia antigranulocitaria de los ácidos fenámicos con su toxicidad relativa vía oral (subcrónica), adjudicando al ácido flufenámico el valor de la unidad como referencia. Con estos cálculos, el ácido meclofenámico presentó una relación de 1,4, demostrando que era el compuesto del grupo cuya relación potencia/toxicidad era más elevada.

II.2.5.- Aplicaciones terapéuticas en Veterinaria.

Los meclofenamatos se introdujeron por primera vez en la Farmacopea Británica en 1985 (BRITISH PHARMACOPOEIA) aunque ya se dieron a conocer como preparados farmacéuticos (ARQUEL) en 1973 (CONNER y col., 1974).

Se han realizado numerosas pruebas de actividad y tolerancia en especies domésticas y en el hombre. resultando de ellas el uso terapéutico generalizado en afecciones músculo-esqueléticas, principalmente en équidos.

Su uso terapéutico en rumiantes se centra en el tratamiento de casos de anafilaxia de diversos orígenes en terneros, en mastitis bovinas agudas, en la inducción al parto, tanto en ovejas como en cabras, y experimentalmente se ha utilizado como medio para averiguar el origen de algunos procesos anafilácticos y el mecanismo de acción de algunas sustancias.

Algunos procesos anafilácticos en terneros producidos por vacunas, como las avirulentas de *Salmonella dublin* se han prevenido clásicamente con administración subcutánea de adrenalina. Se ha comprobado que el cuadro anafiláctico es reducido con mayor eficacia si al tratamiento subcutáneo con adrenalina se le suplementa con administración vía oral de ácido acetil salicílico o meclofenamatos (BURKA y SCARNELL, 1978).

También se ha utilizado el meclofenamato sódico (2,0 mg/kg) junto con dietilcarbamacina para prevenir la anafilaxia sistémica producida por suero equino en terneros. Se consiguió una reducción de la hemoconcentración y la hipercalcemia y controlar en gran medida la aparición del edema pulmonar (WELLS y col., 1973).

En general, el meclofenamato sódico se ha demostrado que ofrece un efecto protector considerable frente a las anafilaxias de terneros mediadas por prostaglandinas (AITKEN y SANFORD, 1975 a), especialmente efectivo en los casos en los que se expresan con shock cardiovascular (BURKA y EYRE, 1974).

Los protocolos de la prevención de anafilaxia aguda sistémica en terneros consisten en 2 mg/kg, por vía endovenosa lenta 15 minutos antes de entrar en contacto con el agente productor de la anafilaxia o/y 10 mg/kg por vía oral 4 h antes. Como tratamiento se recomienda 2 mg/kg por vía endovenosa en el momento de aparición de los síntomas (WELLS y col., 1973).

Estos tratamientos se han experimentado tanto en cuadros anafilácticos producidos experimentalmente (cininas, SRS, ATP,...) como en procesos naturales (neumonía intersticial atípica, autoalergia, vacunaciones, ...) (AITKEN y col., 1975).

El tratamiento en mastitis aguda y peraguda en ganado vacuno se basa en las elevadas concentraciones de estos fármaco en la leche, que aumenta cuando aparece el proceso patológico producido por ciertas especies de bacterias, como *Escherichia coli* (LOHUIS y col., 1991).

En ovejas y cabras se ha utilizado experimentalmente para mejorar la sincronización del parto con cloprostenol (250 ug, dosis única, I/M) o dexametasona (2 mg/día, intrafetal). Estos dos compuestos inducen al parto pero sin producir dilatación de la cervix uterina. El tratamiento con ácido meclofenámico (V/O, 10 mg/kg/8h), tras uno de los dos pretratamientos mencionados, produce un retraso en la caída de niveles plasmáticos de PGF₂ y el consiguiente retraso del parto, sin afectar a la dilatación del canal, con lo que se consigue simultanear contracción y

dilatación en un plazo de 36 horas (FITZPATRICK, 1977).

El uso del ácido meclofenámico en el tratamiento de parasitosis gastrointestinales en ovejas es muy discutido ya que este fármaco puede actuar a dos niveles, con efectos contrapuestos. Por una parte, como inhibidor de la síntesis de prostaglandinas, al igual que el resto de los AINE, puede inhibir la motilidad gastrointestinal y evitar la degranulación de las células mieloides, con lo que, teóricamente, favorecería la instalación de los parásitos en el tracto digestivo. Por otra parte, el ácido meclofenámico ejerce un efecto directo sobre los parásitos (el resto de los AINE no poseen esta acción) que consiste en reducir la capacidad motriz, impidiendo que se desplacen a la cavidad gástrica en la que completan su desarrollo.

Se han realizado experimentos para conocer la influencia del tratamiento con meclofenamato sódico (10 mg/kg/día, V/O) en óvidos infestados artificialmente con L3 de *Ostertagia circumcincta* y se ha comprobado que el tratamiento no afecta al número de parásitos establecidos en abomaso, aunque en corderos de 6 meses que no tenían contacto previo con el parásito se pudo observar una ligera reducción de la parasitosis, no significativa estadísticamente (MITCHEL y col., 1990).

En otras especies de animales domésticos tiene también aplicaciones terapéuticas, principalmente en el caballo, especie en la que su uso está generalizado en el tratamiento de osteoartritis aguda o crónica, en procesos inflamatorios de tejidos blandos del sistema locomotor y en laminitis (V/O, 10 mg/kg/día, durante 5-7 días) (BOOTH, 1988).

También se recomienda su uso en cerdas para sincronización del parto. El tratamiento consiste en administración vía oral de meclofenamato sódico solo

(5mg/kg/día, durante los días 112, 113 y 114 de gestación) o bien administración junto con cloprostenol (I/M, 200 ug, dosis única el día 115 de gestación). Con ambas fórmulas se retrasa el parto 2 días, no se produce alteración alguna en los lechones y presenta la ventaja de poderse administrar mezclado con el pienso (GOONERATNE y col., 1982).

En yeguas preñadas de dos fetos se han comprobado que el ácido meclofenámico por vía oral (1 g/día en dos tomas, 4 días + 1g /día, 4 días) durante los días 30-42 de gestación facilita la viabilidad de los dos fetos en un 61% de los casos frente al 23% en yeguas no tratadas (PASCOE, 1983).

II.2.6.- Aplicaciones experimentales en Veterinaria.

Se ha utilizado también como herramienta en investigación. Un ejemplo es la utilización del meclofenamato sódico (2 mg/kg, solución salina e.v.) y de la indometazina para averiguar la posible participación de las prostaglandinas en la hemorragia persistente en pollos. La ausencia de efecto de ambos compuestos en la prevención de los síntomas del cuadro, hizo sospechar que las prostaglandinas no intervienen de forma directa en la patogenia del proceso (ZAMBRASKI y SCHULER, 1980).

Pensando en un posible tratamiento de leishmaniasis se han realizado pruebas con meclofenamato sódico sobre cultivos de células esplánicas y macrófagos de exudado peritoneal procedentes de ratones infestados con *L. donovani*. Se había observado que las actividades de la ciclooxigenasa y de la lipoxigenasa de estas células estaban aumentadas, y ello alteraba la función inmunitaria normal de los linfocitos T.

En los cultivos de células esplánicas se consiguió una blastogénesis normal mediante adición de meclofenamato sódico al cultivo (REINER y MALEMUD, 1984). En los cultivos de macrófagos el meclofenamato sódico (0,2-30 μ M) conseguía normalizar la producción de PGE₂ y PGF_{2 α} y, curiosamente, también la síntesis de leucotrieno C₄ (REINER y MALEMUD, 1985).

La oxitocina (100 U.I., dosis única) se ha utilizado con éxito en cabras (no en ovejas ni en yeguas) para sincronizar celos. Administrada entre los días 3 y 6 del ciclo, aparece un estro fértil el 7º día, reduciendo el ciclo de 21 a 7 días. La administración conjunta de ácido meclofenámico con oxitocina inhibe la aparición del estro fértil, lo que hace sospechar que el papel que juega la oxitocina en el ciclo

estral de la cabra se debe a su acción sobre síntesis de prostaglandinas (HOMEIDA, 1986).

Todo ello parece estar relacionado con la capacidad del ácido meclofenámico para abolir completamente la motilidad uterina provocada en cabras por administración de oxitocina (COOKE y KNIFTON, 1980). Por esta intervención local a nivel de útero se ha utilizado en trabajos de investigación sobre el origen de la actividad del miometrio provocada por administración de sustancias exógenas, como PGE (LYE y col., 1983).

En ovejas, esta acción sobre útero se refleja especialmente en la cervix. El tratamiento con meclofenamato sódico de ovejas antes del parto, impide la dilatación normal de la cervix y provoca distocias cervicales. Esto confirma que las prostaglandinas son los mediadores de los cambios de concentraciones plasmáticas de esteroides, responsables del aumento de las contracciones uterinas y de la relajación de la cervix en el parto (MITCHELL y FLINT, 1978).

Con el fin de averiguar el origen de las afecciones bronquiales producidas por el síndrome respiratorio bovino tipo A y poder encontrar alguna sustancia que controle los síntomas de esta patología, se han realizado pruebas in vitro con meclofenamato sódico sobre preparaciones de pared bronquial. Se comprobó que este antiinflamatorio, a concentraciones de 100 $\mu\text{g/ml}$, provocaba caída del tono muscular y, antagonizaba la respuesta contráctil del tejido producida por la SRS-A bov. Sin embargo, concentraciones idénticas del fármaco no modificaban las respuestas del tejido a la histamina ni a la serotonina. Todo ello llevó a pensar que el meclofenamato sódico antagonizaba selectivamente a la SRS-A bov (BURKA y EYRE, 1977 b).

Sin embargo, sobre los cambios de la permeabilidad vascular cutánea en bóvidos como causa de reacción anafiláctica, el meclofenamato sódico ha demostrado no ser capaz de antagonizar la SRS-A aunque sí antagoniza la PGE y la histamina (BURKA y EYRE, 1977 a).

En caballo se han utilizado varios inhibidores de mediadores celulares con el fin de conocer las sustancias endógenas relacionadas con la anafilaxia en esta especie. El meclofenamato sódico resultó ser el fármaco más eficaz de los probados en suprimir la anafilaxia experimental, seguido del ác. acetilsalicílico y de la dietilcarbamacina. De ello parece desprenderse que en los procesos anafilácticos de los équidos tienen mayor importancia las cininas, prostaglandinas y SRS como mediadores que la histamina y la serotonina (EYRE, 1976).

III.- MATERIAL Y METODOS

III.- MATERIAL Y METODOS

III.1.- MATERIAL.

III.1.1.- Material biológico.

Se utilizaron 6 ovejas de raza Rubia del Molar, sanas, cuyos pesos, edades, sexos y valores fisiológicos más importantes se reflejan en la TABLA III.1. Todas ellas fueron desparasitadas 2 meses antes de realizar las pruebas con albendazol (7 mg/kg).

III.1.2.- Fármacos.

Los meclofenamatos utilizados fueron suministrados por Laboratorios Parke & Davis, tanto en su forma de meclofenamato sódico, como compuesto puro como en forma de preparado comercial de ácido meclofenámico (ARQUEL, 500 mg).

Lys-Vasopresina (18,2 UI/kg) (SIGMA).

Heparina (5%) (LEO).

Nº OVEJA	CROTAL	SEXO	EDAD (años)	PESO (kg)	GLUCEMIA (mg/dl)
1	A-000	H	2 - 3	40	79,8 ± 7,6
2	N-107	H		50	78,3 ± 8,5
3	N-111	H		47	81,0 ± 8,4
4	N-116	H		53	75,5 ± 12,3
5	N-000	H		53	95,1 ± 13,9
6	A-099	H		57	81,8 ± 5,0

TABLA III.1.- Valores de los parámetros fisiológicos más importantes de los animales utilizados.

III.1.3.- Reactivos.

Acetonitrilo (HPLC) (PANREAC).

Acido fosfórico (98 %) (ALDRICH).

Acido clorhídrico (PANREAC).

Diclorometano (SIGMA).

Agua ultrapura.

Polietilenglicol 250 (PANREAC).

Glucosa anhidra (PANREAC).

Suero salino isotónico (IBYS).

Nitrógeno gas (pureza de 40 %, ARGON).

Helio gas (pureza de 4,8 %, ARGON).

III.1.4.- Material fungible.

Jeringas y agujas estériles.

Tubos Eppendorf (1,5 ml).

Viales de plástico (5 ml).

Filtros de purificación de solventes (GV,0,22vM) (MILLIPORE).

Material de vidrio diverso.

Sondas nasogástricas.

Tests de glucosa para Reflotron (Boehringer Mannheim).

Catéter intravenoso (SURFLO, 16 X 2")

III.1.5.- Instrumentación.

pHmetro (CRISON, microPH 2001).

Estufa (TORRECILLA).

Micropipetas (GILSON, 20; 100; 200 y 1000 ul).

Dosificador bucal (SBC, DIAMANT db-3000).

Purificador de agua (MILLIPORE).

Bomba de vacío (MILLIPORE, masterfiex).

Centrífuga (HERAEUS).

Agitador magnético (SELECTA, agimatic 243).

Concentrador de muestras (TECHNE, DB-3A).

Congelador (ARISTON).

Reflotrón (BOEHRINGER MANNHEIM).

Espectrofotómetro (BECKMAN, DU 850).

Ordenador (IBM PS/1).

Impresora (HEWLETT PACKARD, LaserJet 4L).

Equipo de cromatografía líquida de alta resolución:

Bomba (KONTRON, 420).

Mezclador de gradientes (KONTRON, 425).

Detector de fluorescencia (WATERS, 848).

Integrador (SPECTRA-PHYSICS, 4270).

Ordenador (ACER, 500+).

III.2.- METODOS.

III.2.1.- Adaptación y preparación de los animales.

Los animales eran preparados una semana antes del comienzo de las pruebas, estabulados en boxes separados y mantenidos en condiciones homogéneas de temperatura y humedad. Se alimentaban con pienso concentrado y alfalfa y disponían de agua "ad libitum".

Durante este periodo se les sometía a un análisis clínico para comprobar su estado de salud. Los resultados de la analítica sanguínea aparecen en la TABLA III.2.

El día anterior a la realización de cada prueba se depilaba el cuello de los animales, dejando visibles los cursos cervicales de las dos venas yugulares, se colocaba un catéter en una de ellas y se fijaba con un punto de sutura y esparadrapo.

Los catéteres se quitaban en los periodos de descanso entre pruebas, que eran de 10 días, volviéndose a colocar en la vena opuesta, para el siguiente experimento.

PARAMETROS HEMATICOS	1	2	3	4	5	6	
BILIRRUBINA	5,8	5,08	4,95	7,31	7,13	4,48	(mg/dl)
TRIGLICERIDOS	76,8	93,7	90,4	81,5	72,8	75,6	(mg/dl)
UREA	32,3	34,5	33,2	35,1	36,6	36,4	(mg/dl)
GOT	49,6	34,2	37,4	48,0	41,6	38,6	(U/125 ml)
GGT	34,1	48,0	38,0	37,9	36,7	32,0	(U/125ml)

TABLA III.2,- Valores de los parámetros sanguíneos de los animales utilizados.

III.2.2.- Metodología analítica.

Para detectar meclofenamatos en plasma y contenido ruminal se utilizó un método específico de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), creado a partir de modificaciones sobre los métodos de Johansson y col. (1986), Owen y col. (1987) y Koup y col. (1990).

Se realizaron pruebas con distintas fases móviles (metanol:agua y acetonitrilo:agua), diferentes proporciones de solventes (40:60; 50:50 y 60:40), pH (2,3; 2,5 y 3,0) y flujo (0,85; 1,00 y 1,50 ml/min) variables. También se hicieron experimentos con dos longitudes de onda (226 y 280 nm) y se probó un patrón interno (ácido p-toluico).

De todas las variaciones probadas, las condiciones analíticas finales elegidas fueron:

Columna.- C18 (SPHERIGRAPH, 3,9 mm x 25 cm; 10 μ m).

Precolumna.- C18 (BROWNLEE, 15 mm x 3,2 cm)

Fase móvil.- acetonitrilo:agua (pH=2,5 con fosfato), (60:40).

Flujo.- 1,5 ml/min.

Longitud de onda.- 226 nm.

Atenuación.- 32.

Velocidad del papel.- 0,1 cm/min.

Volumen de muestra inyectado.- 20 μ l.

Temperatura.- Ambiente.

La elección de la longitud de onda de lectura del detector se llevó a cabo en base a la máxima absorbancia observada para el compuesto en la realización de un

espectro de absorbancia entre 210 y 400 nm de longitud de onda.

La cuantificación de los resultados se realizó en función de las áreas bajo curva de los picos obtenidos para los meclofenamatos (ABC).

La puesta a punto de la valoración de concentraciones de los meclofenamatos se realizó con soluciones etanólicas de meclofenamato sódico de concentraciones comprendidas entre 0,5 y 30 $\mu\text{g/ml}$. La interpretación diaria de las concentraciones se obtenía por interpolación en la recta de calibración, previa corrección de los datos frente a dos patrones diarios.

El procesado de las muestras biológicas era igual para plasma y para contenido ruminal. Se tomaban 0,5 ml de muestra y se mezclaban con 0,5 ml de HCl (6N) en tubos de vidrio de 10 ml, se agitaba y se añadían 5 ml de diclorometano. Los tubos se agitaban a baja velocidad durante 2 min y se centrifugaban a 2000 g durante 10 min. Se separaban 4 ml de la fase orgánica y se desecaban a 40 °C en atmósfera de nitrógeno. Las muestras se reconstituían con 0,2 ml de fase móvil y se procedía a la inyección en el cromatógrafo.

En las pruebas realizadas para poner a punto el método analítico con contenido ruminal, las muestras de este líquido sufrían procesos previos de filtrado a través de gasa estéril (para eliminar la materia sólida), de congelación a -20 °C durante 24 h y de cocción durante 5 min (para inactivar los microorganismos que pudieran alterar las concentraciones de fármaco de los patrones).

Para validar el método analítico utilizado se calculó el límite de detección y se realizaron pruebas de linealidad, reproducibilidad y recuperabilidad tanto en plasma como en contenido ruminal.

El estudio de la linealidad se realizó entre valores de 0,5 y 30 $\mu\text{g/ml}$ con soluciones patrón. Los datos de concentraciones y áreas bajo curva (ABC) se ajustaron a una recta por regresión lineal.

La reproducibilidad de las áreas bajo curva cromatográfica se estudió realizando 6 preparaciones de cada una de las concentraciones elegidas, 2 cada día, para poder evaluar las variaciones intradía e interdía. Así mismo, los resultados se sometieron a un test de comparación de medias muestrales.

La recuperabilidad se calculó a partir de muestras de plasma de oveja al que se añadía un pequeño volumen ($< 1\%$ del volumen total) de solución concentrada de meclofenamato sódico, para conseguir concentraciones en plasma de 0,5; 2,5; 4,5; 6,5; 9,5 y 15,0 $\mu\text{g/ml}$ ($n=6$). Las muestras se sometían al procedimiento analítico mencionado y de los valores obtenidos se calcularon los porcentajes de concentración de fármaco detectado en función de la concentración inicial conocida (100%). Las medias de las 6 recuperaciones obtenidas con cada concentración se sometieron a un test de comparación de medias muestrales.

El límite de detección del método se calculó con un margen de confianza igual a 3 veces la desviación típica de las soluciones patrón blancas, según la fórmula:

$$LD = K \cdot DT / m$$

donde:

LD.- límite de detección (concentración mínima detectable).

K.- margen de seguridad (3).

DT.- desviación típica de la solución patrón blanca.

m.- pendiente de la recta de regresión.

III.2.3.- Comprobación del cierre de la gotera reticular.

El método elegido para provocar el cierre de la gotera reticular ha sido la administración endovenosa de Lys-Vasopresina (0,3 UI/kg). El método ha sido utilizado y comprobada su eficacia en ganado vacuno (MIKHAIL, 1987), pero no en ovino, por lo que tuvimos la necesidad de demostrar su acción en los animales utilizados.

Para comprobar si este método era eficaz en el cierre de la gotera y, en caso positivo, durante cuánto tiempo se mantenía la estructura en estado cerrado, se realizó con cada oveja un test de tolerancia a la glucosa (RIEK, 1954).

Se probaron modificaciones del test propuesto para vacas en cuanto a dosis de glucosa (0,625 y 1,250 g/kg) y volumen de administración (25, 30 y 50 ml).

Finalmente, el test consistió en medir los niveles plasmáticos de glucosa de los animales a tiempos de 0, 15, 30, 60, 120 y 180 min, tras administrar por vía oral 40 ml de una solución acuosa templada, conteniendo 0,625 g/kg P.V. de glucosa.

La secuencia de tomas se llevaba a cabo dos veces, una de ellas 10 min después de la administración I/V de 0,6-0,95 ml de suero fisiológico y la otra, 10 min después de la administración del mismo volumen de una solución acuosa de Lys-vasopresina (0,3 U.I./kg; en solución de 19 U.I./ml).

Los datos de glucemia se transformaron en porcentajes, tomando como referencia el valor de concentración de glucosa fisiológico de cada animal (50%), para poder tratar estadísticamente los mismos.

Se realizó una comparación de los valores medios de los porcentajes de glucemia obtenidos en ambas pruebas para cada toma. Las diferencias encontradas se utilizaron para averiguar el posible cierre de la gotera reticular por efecto del pretratamiento con Lys-Vasopresina. Se tomó como índice de cierre la diferencia estadísticamente significativa entre dos medias, siempre que el resto de las muestras no presentaran diferencias E.S. y que en dichas tomas los niveles sean mayores tras el tratamiento con Lys-vasopresina. El tiempo de cierre es el comprendido entre las muestras cuyas medias difieren estadísticamente, con un $p < 0,05$.

III.2.4.- Administración endovenosa de meclofenamato sódico.

Se administró una dosis de 2,2 mg/kg de meclofenamato sódico a 6 ovejas, a partir de una solución en agua:polietilenglicol 250 (75:25) con una concentración de 0,1 g/ml.

Los volúmenes de solución administrada a los animales oscilaron entre 0,84 y 1,25 ml, en función de los pesos de los mismos, ya que se partía siempre de una misma solución (TABLA III.3).

Para descartar posibles interferencias de la administración endovenosa de suero fisiológico en el resto de las pruebas, diez minutos antes de comenzar este experimento se administró por vía endovenosa un volumen de suero fisiológico (igual al volumen de la solución de meclofenamato sódico) en la vena yugular opuesta a la de administración del fármaco.

La administración se realizaba por una de las venas yugulares, de forma rápida (< 1 min) y la obtención de muestras de sangre, a través del catéter colocado en la vena yugular opuesta.

Las muestras de sangre (2,5 ml) se tomaban en jeringas heparinizadas a los siguientes tiempos post-administración: 0, 10, 20, 30, 45, 60 y 120 min y 4, 6, 8 y 24 h.

Antes de procesar las muestras se realizó una prueba de determinación de glucemia en las muestras de tiempos 0, 10, 20 y 30 min. Posteriormente, la sangre se centrifugaba a 2000 g, durante 20 min, y se separaba el plasma, que era mantenido a -20 °C hasta su análisis (<20 días). Las muestras de plasma

		1	2	3	4	5	6
	PESO (kg)	40	50	47	53	53	57
e.v.	DOSIS MECLOF	2,2 mg/kg					
	VOLUMEN (ml)	0,88	1,10	1,03	1,17	1,17	1,25
ORAL	DOSIS MECLOF	20 mg/kg					
	DOSIS GLUCOSA	0,625 g/kg					
	VOLUMEN	30 ml					
	CC MECLOF (mg/ml)	20,2	25,0	23,5	26,5	26,5	28,5

TABLA III.3.- Dosis de meclofenamatos administrados en las distintas pruebas por vía endovenosa y oral. Volumen y concentración de las soluciones de meclofenamato sódico y glucosa administrados a cada individuo.

conservadas se descongelaban lentamente a temperatura ambiente (25 °C) y se procesaban con el método descrito para su inyección en el cromatógrafo.

III.2.5.- Administración vía oral.

Se realizó un diseño de cuadrado cruzado latino 3 x 3 en el que 3 grupos, de 2 ovejas cada uno, fueron sometidos a 3 pruebas diferentes de administración de meclofenamatos por vía oral. El primer grupo estaba compuesto por los animales n° 1 y 2, el segundo grupo, por los n° 3 y 4 y el último grupo, por las ovejas n° 5 y 6.

Las tres pruebas realizadas consistían en administración de ácido meclofenámico sin pretratamiento de Lys-Vasopresina o de meclofenamato sódico, con y sin pretratamiento de Lys-Vasopresina, a las dosis indicadas en la TABLA III.4, en solución preparada según aparece en la TABLA III.3. Se intentaba crear diversas situaciones de cierre y apertura de la gotera reticular durante la administración de los fármacos (FIGURA III.1).

Prueba A:

Se administraba por vía intravenosa un volumen de suero salino (0,60-0,95 ml) en la vena yugular opuesta a la colocación del catéter. A los 10 min se administraban mediante pistola (per os) 30 ml de una suspensión de ácido meclofenámico (ARQUEL) junto con 0,625 g/kg de glucosa en agua templada.

Se tomaron muestras de sangre (2,5 ml) en jeringas heparinizadas, a través del catéter, a los tiempos: 0, 15, 20, 45, 60, 90, 120 y 150 min y 3, 5, 7, 9, 11, 24, 32 y 48 h (tomando como tiempo 0 el momento de administración del ácido meclofenámico por vía oral).

Con las muestras de los tiempos 0, 15 y 30 se realizó un test de glucemia antes de ser procesadas de igual manera que se hizo en las muestras sanguíneas de

	TRATAMIENTO ORAL		PRETRATAMIENTO e.v.	
	MECLOFENAMATO SODICO (mg/kg)	AC. MECLOFENAMICO (mg/kg)	Lys-VASOPRESINA (U.I./kg)	SUERO FISIOLÓGICO (ml)
PRUEBA A	--	20	--	0,60-0,95
PRUEBA B	20	--	--	0,60-0,95
PRUEBA C	20	--	0,03	--

TABLA III.4.- Tratamientos y pretratamientos practicados en cada una de las pruebas realizadas con meclofenamatos por vía oral.

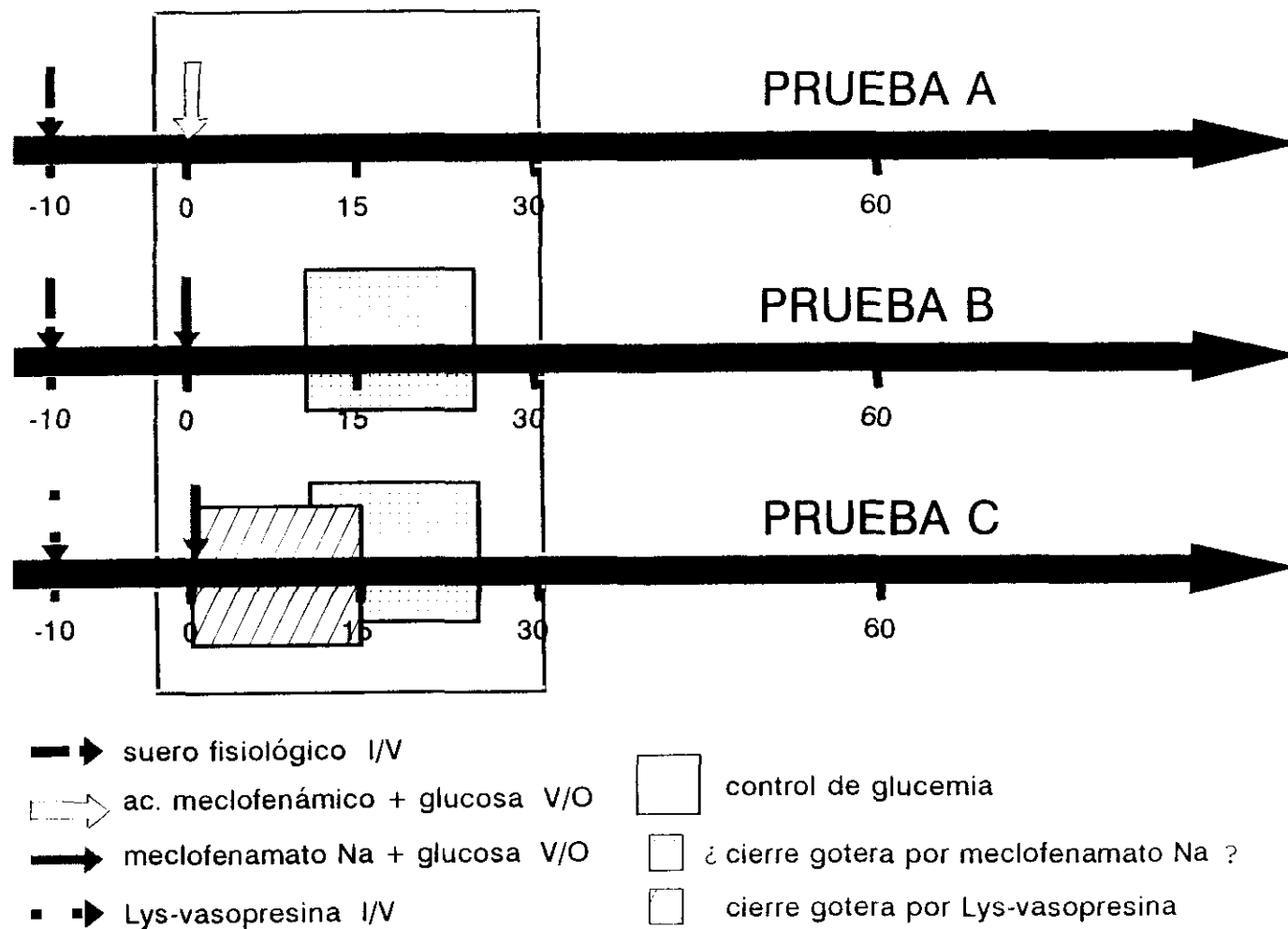


FIGURA III.1.- Protocolo de trabajo de las pruebas de administración oral con meclofenamato sódico y ácido meclofenámico en ovejas.

la prueba endovenosa.

Prueba B:

Un volumen de suero fisiológico (0,60-0,95 ml) se administraba en la vena yugular opuesta al catéter y a los 10 minutos se administraba meclofenamato sódico (20 mg/kg) por vía oral, con pistola, junto con glucosa (0,625 g/kg) disueltos en 30 ml de solución templada en agua:polietilenglicol 250 (75:25).

Prueba C:

Diez minutos antes de la administración de meclofenamato sódico se administraba intravenosamente un volumen de una solución (18 UI/ml) de Lys-vasopresina a dosis de 0,3 UI/kg. La administración oral de meclofenamato sódico (20 mg/kg) y glucosa se realizaba de la misma forma que en la prueba anterior.

Las tomas de muestras, el test de glucemia y el procesamiento de las muestras de sangre de las pruebas B y C eran idénticos a los descritos en las pruebas anteriores.

Las muestras de sangre de todas las pruebas de la administración oral se centrifugaban, conservaban y trataban como se ha descrito en la prueba de administración endovenosa.

III.2.6.- Tratamiento cinético.

Los datos de concentración plasmática de meclofenamato sódico obtenidos de todas las pruebas se ajustaron matemáticamente a ecuaciones poliexponenciales de 1, 2, 3 y 4 exponentes mediante el programa informático PKCALC (SHUMAKER, 1986).

En primer lugar se trataban los datos de cada oveja por separado y después, las medias del parámetro para cada tiempo de los 6 individuos.

Con el fin de comprobar la bondad del ajuste realizado se compararon los parámetros cinéticos obtenidos por ajuste de los valores medios de las concentraciones plasmáticas de las 6 ovejas con los obtenidos como media de los ajustes individuales de cada animal.

III.2.7.- Tratamiento estadístico.

Todos los resultados se han expresado como media aritmética \pm E.S.M. Para comparar los resultados obtenidos en las distintas pruebas se ha utilizado un test de comparación independiente de medias muestrales y de comparación de varianzas, tomando siempre valores de significación $p < 0,05$.

Las pruebas de linealidad del método analítico del área bajo la curva del cromatograma frente a la concentración del fármaco se han realizado por ajuste mediante regresión lineal de los datos por mínimos cuadrados.

Todos los cálculos se realizaron con ayuda del programa informático de estadística SIGMA.

IV.- RESULTADOS

IV.- RESULTADOS

IV.1.- Método analítico del meclofenamato sódico.

El espectrofotograma realizado con meclofenamato sódico en solución etanólica (15 mg/ml) presentaba un pico de máxima absorbancia a los 226 nm y otro pico de menor magnitud a los 293 nm (FIGURA IV.1). El primero de estos valores se tomó como referencia para el desarrollo de la analítica de este fármaco.

Con el método cromatográfico utilizado, los meclofenamatos presentaba un tiempo de retención de $5,10 \pm 0,15$ min y no interfería con los picos ni de los solventes ni de los frentes de las muestras biológicas (FIGURA IV.2).

En solución etanólica el meclofenamato sódico demostró mantener una relación directa y proporcional entre concentración y área bajo la curva entre valores de 0,5 y 30 $\mu\text{g/ml}$. Con los valores de estos parámetros se realizó un ajuste mediante regresión lineal por mínimos cuadrados, resultando la siguiente ecuación:

$$CC = 109925 \text{ ABC} - 25728$$

(con un índice de ajuste $r^2 = 0,991$, $p < 0,01$).

En la FIGURA IV.3 se encuentra la representación gráfica de estos resultados y en la TABLA IV.1 los valores utilizados para su cálculo.

Mediante estudio estadístico se pudieron calcular las variaciones inter e intradías de los valores medios para cada concentración. Los resultados de dichas variaciones no presentaban diferencias estadísticamente significativas entre las tres concentraciones testadas ($p > 0,05$):

$$V_{\text{intra}} = 2,59 \%$$

$$V_{\text{inter}} = 7,35 \%$$

El límite de detección, calculado con un coeficiente de seguridad de tres veces la desviación standard del blanco, era de $0,171 \mu\text{g/ml}$ meclofenamato sódico en plasma.

La recuperabilidad del fármaco a partir de muestras de plasma de oveja, utilizando el proceso descrito en el apartado de método, con concentraciones comprendidas entre $0,5$ y $15 \mu\text{g/ml}$ resultó del $90,26 \pm 2,34$ (TABLA IV.2).

En muestras de contenido ruminal ovino, con concentraciones comprendidas entre $3,5$ y $15 \mu\text{g/ml}$, la recuperabilidad del meclofenamato sódico fue del $85,72\% \pm 2,94$ (TABLA IV.3).

En ninguno de los líquidos biológicos se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los valores medios de recuperación obtenidos para las diferentes concentraciones ensayadas ($p > 0,05$).

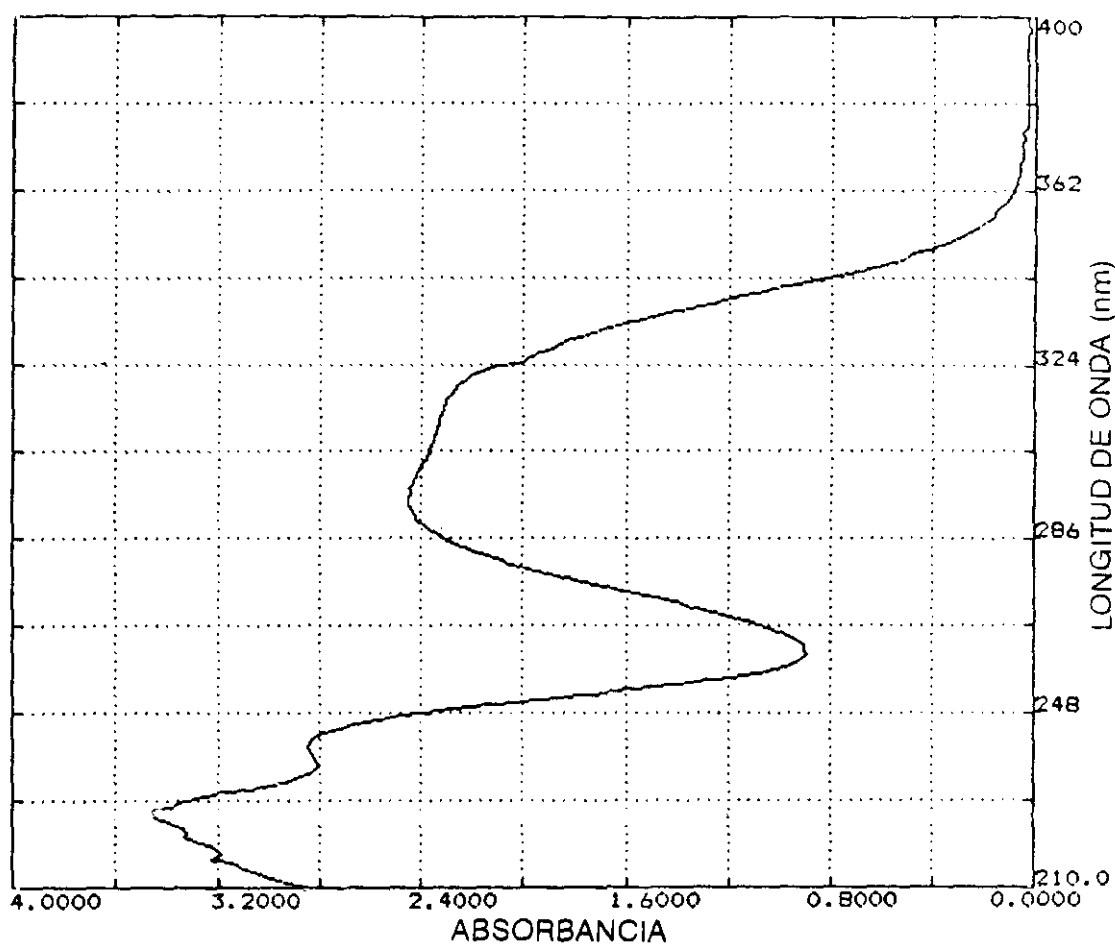


FIGURA IV.1.- Espectrofotograma de meclofenamato sódico (0,5 mg/ml) en etanol (velocidad = 750 nm/min; rango de longitud de onda.- 210-400 nm).

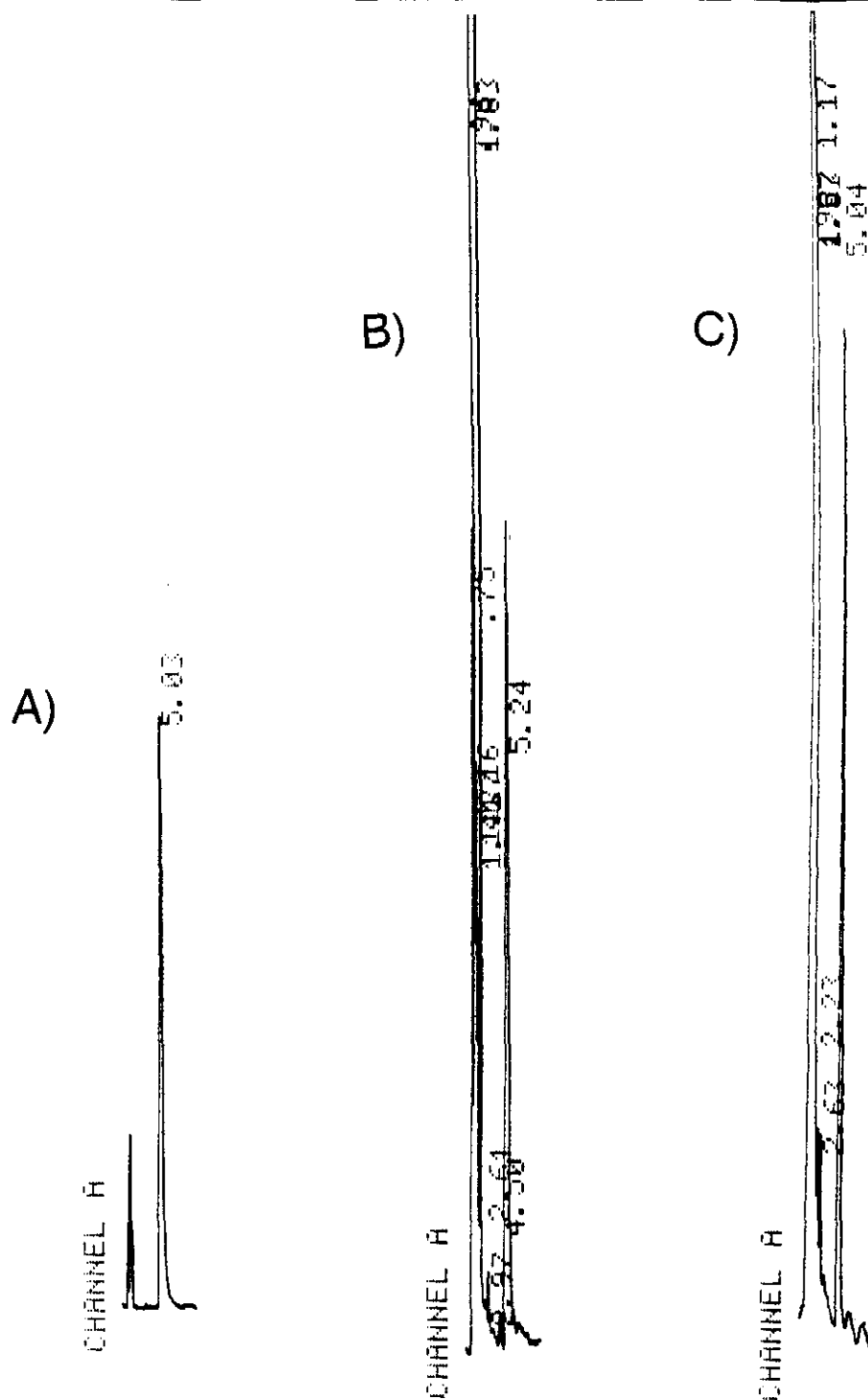


FIGURA IV.2.- Cromatogramas de meclofenamato sódico obtenidos mediante el método analítico descrito. A) Solución etanólica ($7 \mu\text{g/ml}$). B) Plasma de oveja ($6,5 \mu\text{g/ml}$). C) Contenido ruminal de oveja ($7 \mu\text{g/ml}$).

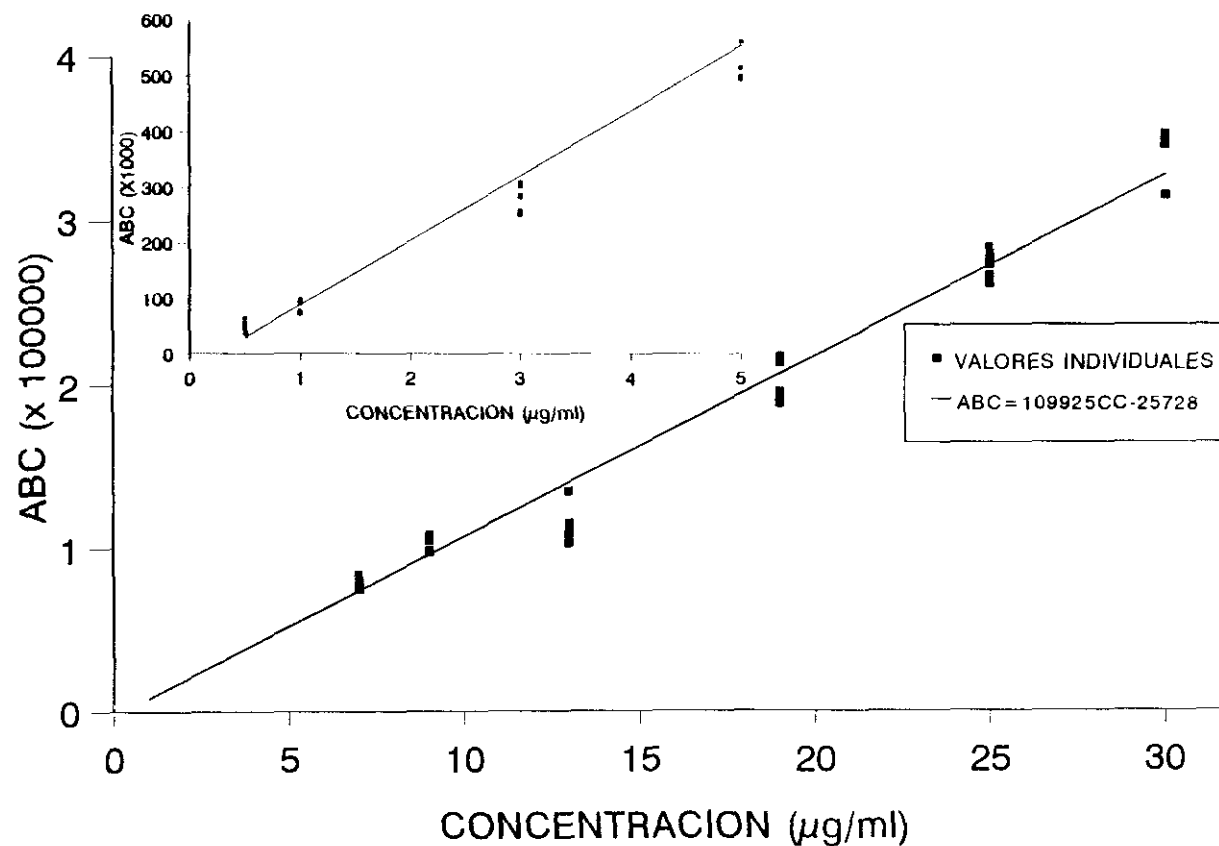


FIGURA IV.3.- Recta de calibración mediante ajuste lineal del área bajo curva (ABC) de soluciones etanólicas de meclofenamato sódico frente a la concentración (0,5-7 µg/ml; 5-30 µg/ml) ($r^2 = 0,9910$).

ABC					
CC MECLOF ($\mu\text{g/ml}$)	DIA - 1	DIA - 2	DIA - 3	MEDIA	E.S.M.
0,5	37998	65760	41908		
	45539	55350	41774	48054	4287
1,0	72995	97181	75661		
	75912	94213	72840	89700	4468
3,0	284933	301164	250746		
	281837	308115	256709	280584	9420
5,0	495848	511167	511379		
	491036	557680	495859	510491	10055
7,0	749677	838196	777516		
	764489	835003	829479	776949	15448
9,0	1057089	1044397	986578		
	1058698	1083044	977500	1034551	17412
13,0	1135207	1084549	1343972		
	1152453	1030311	1348392	1182480	54616
17,0	2169125	1906051	1917476		
	2128966	1882676	1953853	1993024	50489
25,0	2811060	2611225	2765156		
	2828742	2656918	2728245	2733557	35087
30,0	3520018	3146138	3472618		
	3482490	3145122	3451327	3369785	71460

TABLA IV.1.- Areas bajo la curva de meclofenamato sódico a distintas concentraciones (0,5-30 $\mu\text{g/ml}$) en solución etanólica. (Valores individuales, separados por días; media \pm E.S.M., para cada concentración).

CC MECLOF ($\mu\text{g/ml}$)	RECUPERACION (%)				
	DIA - 1	DIA - 2	DIA - 3	MEDIA	E.S.M.
0,5	98,05	109,00	105,01	104,0	3,20
2,5	95,19	79,96	78,38	84,51	5,36
4,5	102,59	80,24	91,55	91,46	6,45
6,5	94,32	97,62	82,66	91,53	4,54
9,5	82,91	85,09	82,73	83,58	0,76
15,0	--	85,36	83,82	84,59	0,72
MEDIA	94,61	89,54	87,35	90,26 \pm 2,34	
E.S.M.	3,26	4,69	3,94		

TABLA IV.2.- Recuperación de meclofenamatos (%) a partir de plasma de oveja para distintas concentraciones plasmáticas del fármaco (0,5-15,0 $\mu\text{g/ml}$). (Valores individuales, separados por días; media \pm E.S.M., por concentraciones plasmáticas y por días).

CC MECLOF ($\mu\text{g/ml}$)	RECUPERACION (%)				E.S.M.
	DIA - 1	DIA - 2	DIA - 3	MEDIA	
3,5	83,97	92,92	74,18		
	70,14	82,53	80,17	79,3	3,42
7,0	91,89	103,39	95,25		
	86,95	81,93	95,36	92,73	1,46
15,0	70,22	96,68	85,89		
	77,05	--	84,22	85,14	6,65
MEDIA	80,04	91,49	85,84	85,72 \pm 2,94	
E.S.M.	5,36	5,88	5,25		

TABLA IV.3.- Recuperación de meclofenamatos (%) a partir de contenido ruminal de oveja para distintas concentraciones del fármaco (3,5-15,0 $\mu\text{g/ml}$). (Valores individuales, separados por días; media \pm E.S.M., por concentraciones plasmáticas y por días).

IV.2.- Comprobación del cierre de la gotera reticular.

Los valores de glucemia obtenidos antes de iniciar cada prueba en las seis ovejas (72,6-92,3 mg/dl, en sangre entera) se encontraban dentro de los límites fisiológicos de la especie ovina (55-79 mg/dl, en plasma) (BLUNT y col., 1975).

Con los valores medios (+ E.S.M.) del porcentaje de glucemia para cada tiempo de toma (TABLA IV.4) se elaboró una gráfica en la que se pueden observar los resultados obtenidos (FIGURA IV.4).

En la prueba realizada tras administración intravenosa de suero fisiológico se puede observar que los niveles de glucosa en plasma se mantienen prácticamente constantes, alrededor del valor fisiológico, con márgenes de 49,18 y 54,25 % y una concentración máxima 2 h después de la administración de la glucosa por vía oral.

Los valores de glucemia, sin embargo, aumentan por encima del 65 % durante los 30 min posteriores a la administración en todas las ovejas tratadas previamente con Lys-vasopresina (e.v.).

Del estudio estadístico realizado por comparación de medias muestrales independientes se comprobó que no existían diferencias estadísticamente significativas entre las tomas de tiempo cero de ambas pruebas.

Ninguno de los puntos de la curva obtenida al administrar suero fisiológico presentaban diferencias estadísticamente significativas frente a los niveles fisiológicos ($p > 0,05$).

Sin embargo, los valores de los tiempos 15 y 30 min de la prueba con

Lys-vasopresina sí presentaban diferencias E.S. ($p < 0,001$ y $p < 0,01$) respecto a los valores fisiológicos de glucemia. Además, la comparación de medias de estos dos puntos frente a los valores para los mismos tiempos de la prueba con suero también señaló diferencias E.S. ($p < 0,01$) (TABLA IV.4).

De estos resultados se desprende que, con un tratamiento por vía endovenosa de 0,3 UI/kg de Lys-vasopresina a ovejas se provoca el cierre de la gotera reticular dentro de los 15 min siguientes a la administración, con una duración mínima de 15 min. Ello se refleja en un aumento de la glucemia en un 41,85 % sobre los niveles fisiológicos a los 15 min de la administración de una dosis de 0,625 g/kg de glucosa (V/O).

A)	GLUCEMIA (%)					
OVEJA Nº	t = 0	t = 15	t = 30	t = 60	t = 120	t = 180
1	49,49	54,39	51,99	52,85	48,67	48,42
2	48,50	51,40	52,28	56,94	59,01	55,38
3	46,09	51,199	51,56	52,75	55,07	52,41
4	49,47	49,81	50,87	--	--	--
5	52,96	50,18	49,32	--	--	--
6	48,59	50,91	44,80	--	--	--
MEDIA	49,18	51,31	50,15	54,18	54,25	52,07
E.S.M.	0,914	0,66	1,15	1,38	3,01	2,02

B)	GLUCEMIA (%)					
OVEJA Nº	t = 0	t = 15	t = 30	t = 60	t = 120	t = 180
1	46,33	70,25	58,35	51,84	46,90	45,06
2	56,95	68,84	66,77	65,72	59,01	51,35
3	50,29	63,199	63,19	63,19	59,71	58,55
4	45,48	63,90	55,07	--	--	--
5	48,70	79,62	80,24	--	--	--
6	46,33	85,57	72,13	--	--	--
MEDIA	50,68	71,89	65,96	60,08	55,21	51,65
E.S.M.	2,58	3,64	3,77	4,16	4,16	3,90

TABLA IV.4.- Niveles plasmáticos de glucosa (%) en diferentes tiempos (0-180 min) después de la administración por vía oral (0,625 g/kg) de una solución de glucosa (30 ml): A) Previo tratamiento endovenoso con suero fisiológico (0,6-0,95 ml), 10 min antes de la administración oral. B) Previo tratamiento endovenoso con Lys-Vasopresina (0,03 U.I./kg), 10 min antes de la administración oral. (Valores individuales; media \pm E.S.M.).

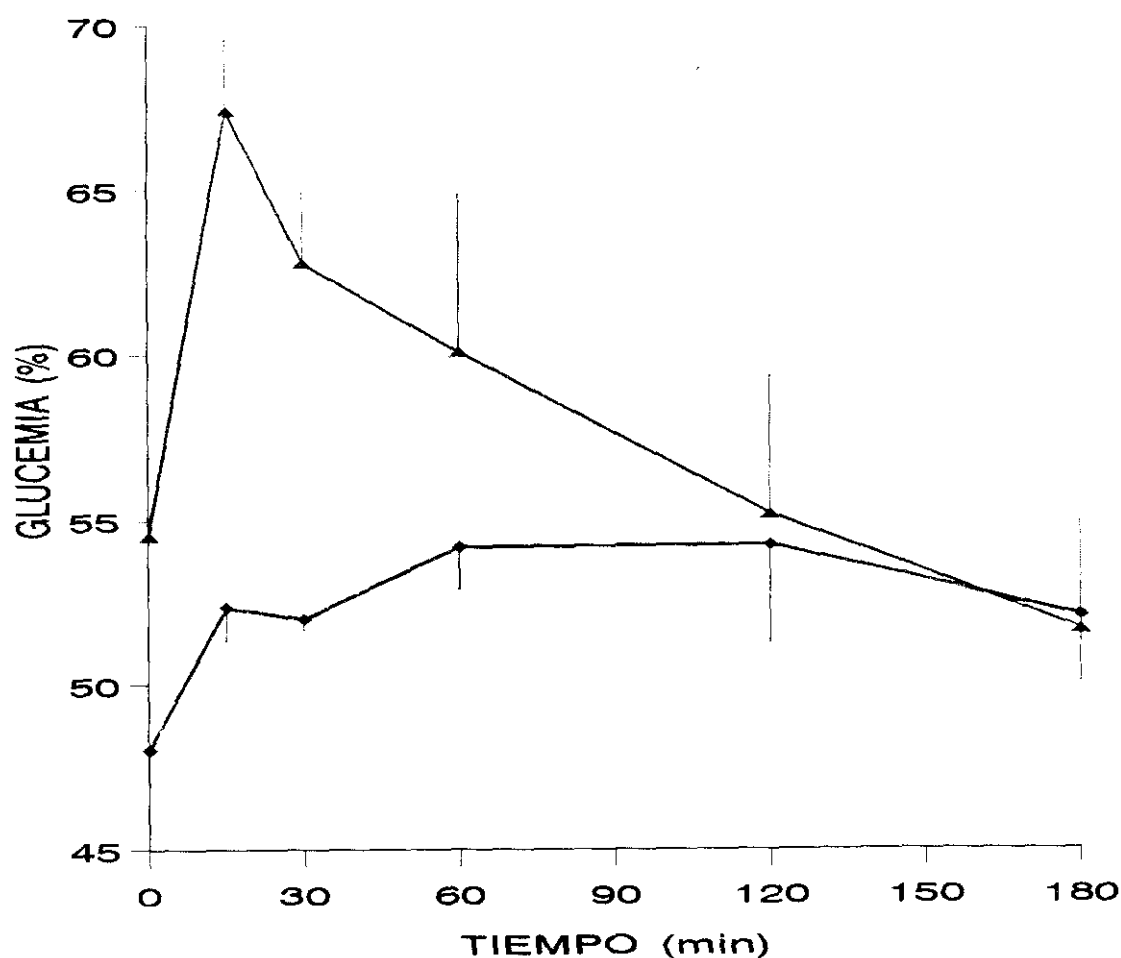


FIGURA IV.4.- Glucemia en ovejas frente al tiempo tras administración vía oral de glucosa (0,625 g/kg): pretratamiento endovenoso de suero fisiológico (♦); pretratamiento endovenoso de Lys-vasopresina (0,03 U.I./kg) (Δ) (MEDIA \pm E.S.M.; n=6).

IV.3.- Administración endovenosa.

No se observó ninguna alteración significativa en los niveles plasmáticos de glucosa durante los primeros 30 minutos post-administración de meclofenamato sódico (TABLA IV.5). Así mismo no se observó ningún signo clínico de efectos secundarios a la administración del fármaco o del suero.

Los valores de concentración plasmática de meclofenamato sódico tras administración endovenosa rápida a 6 ovejas, junto a las medias y E.S.M. aparecen en la TABLA IV.6 y representados en la FIGURA IV.5.

Las concentraciones plasmáticas máximas obtenidas a los 5 min de la administración ($20,35 \pm 2,06 \mu\text{g/ml}$) descendían de forma rápida hasta los 20-30 min (alrededor de $3 \mu\text{g/ml}$). A partir de este tiempo las caídas de los niveles plasmáticos eran más lentas, llegando a estar por debajo del límite de detección a las 24 h.

El ajuste de las curvas de concentración plasmática frente al tiempo se efectuó en todos los individuos a ecuaciones biexponenciales cuyos coeficientes (A y B) y exponentes (alfa y beta) aparecen en la TABLA IV.7 junto a otros parámetros cinéticos.

La comparación de los valores medios de estos parámetros para los 6 individuos con los parámetros obtenidos al tratar las medias de concentraciones de las 6 ovejas no presentaban diferencias significativas.

Además, los C.V. de las medias de los parámetros de todos los individuos eran menores del 20% en cualquiera de los parámetros cinéticos estudiados.

Así, la ecuación que define la concentración plasmática de meclofenamato sódico esperada tras la administración endovenosa rápida de 2,2 mg/kg en ovejas adultas es:

$$CCP = 3,37 e^{0,091t} + 0,05 e^{1,22E(-4)t}.$$

rango de r^2 : 0,8984 - 0,9979

donde: CCP = concentración plasmática

$$E(-4) = 10^{-4}.$$

OVEJA N°	GLUCEMIA (mg/dl)					CIERRE DE GOTERA
	t=0	t=15	t=30	Fisiológico	Durante el cierre	
1	87,8	80,8	88,1	79,8 ± 7,6	> 100,0	NO
2	86,9	90,2	91,3	78,3 ± 8,5	> 98,0	NO
3	89,2	90,0	96,0	81,0 ± 8,4	> 102,0	NO
4	70,2	69,0	70,0	75,5 ± 12,3	> 95,0	NO
5	96,0	96,0	87,0	95,1 ± 13,9	> 120,0	NO
6	86,2	92,8	94,1	81,8 ± 5,0'	> 103,0	NO

TABLA IV.5.- Valores de glucemia (mg/dl) obtenidos durante la prueba de administración endovenosa de meclofenamato sódico (2,2 mg/kg) y glucosa oral (0,625 g/kg). Niveles fisiológicos de cada oveja (media ± E.S.M., n=3). Valor de glucemia cuando se produce el cierre de la gotera reticular a los 15 min de la administración. Evaluación del cierre de la gotera en función de los datos anteriores.

TIEMPO	OVEJA 1	OVEJA 2	OVEJA 3	OVEJA 4	OVEJA 5	OVEJA 6	MEDIA \pm E.S.M.
5	21,13	17,00	14,59	16,90	25,45	27,04	20,35 \pm 2,06
10	9,87	6,63	8,40	9,94	21,65	16,01	12,08 \pm 2,31
20	6,45	3,49	2,84	4,19	7,49	11,28	5,96 \pm 1,29
30	3,65	1,55	1,65	3,13	-	4,56	2,91 \pm 0,58
45	1,67	1,36	0,96	1,62	3,17	2,45	1,87 \pm 0,33
60	1,17	0,99	0,51	1,48	2,10	1,76	1,33 \pm 0,23
120	0,81	0,38	0,26	-	-	0,98	0,61 \pm 0,17
240	0,52	-	-	0,76	1,01	0,83	0,78 \pm 0,10
360	0,54	0,26	0,24	0,59	0,39	0,63	0,44 \pm 0,07
480	0,31	0,28	0,18	0,75	-	0,65	0,43 \pm 0,11
1440	0,18	0,18	0,18	0,22	0,41	0,18	0,22 \pm 0,04

TABLA IV.6.- Concentraciones plasmáticas de meclofenamatos ($\mu\text{g/ml}$) a diferentes tiempos después de la administración endovenosa de meclofenamato sódico (2,2 mg/kg). (Valores individuales; media \pm E.S.M.).

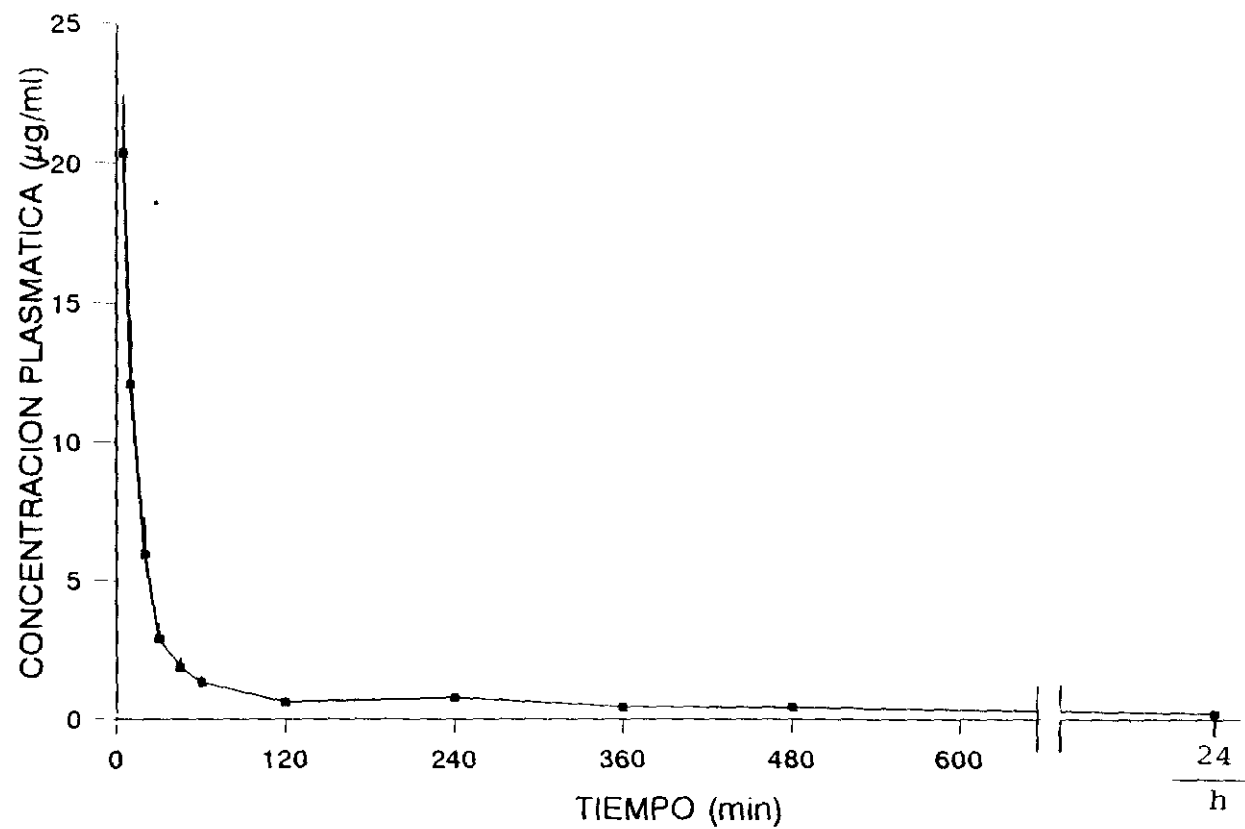


FIGURA IV.5.- Concentraciones plasmáticas de meclofenamato frente al tiempo en ovejas tras administración endovenosa de meclofenamato sódico (2,2 mg/kg) (MEDIA \pm E.S.M.; n=6).

PARAMETROS	OVEJA 1	OVEJA 2	OVEJA 3	OVEJA 4	OVEJA 5	OVEJA 6	MEDIA \pm E.S.M.
A ($\mu\text{g/ml}$)	24,02	23,38	26,03	27,33	43,95	37,04	30,29 \pm 3,40
B ($\mu\text{g/ml}$)	1,77	1,44	1,69	1,64	1,67	1,54	1,62 \pm 0,05
α (10^{-2})(1/min)	7,45	10,97	12,19	11,78	9,76	7,88	10,00 \pm 0,80
β (10^{-3})(1/min)	1,36	1,21	1,09	1,52	1,15	1,59	1,32 \pm 0,08
$T_{1/2} \alpha$ (min)	9,30	6,32	5,68	5,88	7,10	8,79	7,18 \pm 0,63
$T_{1/2} \beta$ (min)	509,04	618,02	637,18	454,77	599,91	435,18	542,35 \pm 35,73
AUC ($\mu\text{g}\times\text{min/ml}$)	759,80	545,42	447,82	1061,82	1232,12	1161,02	868,00 \pm 135,19
TMR (min)	651,97	767,02	662,98	541,29	723,42	450,89	617,92 \pm 49,09
Cl (ml/min)	2,55	3,29	3,92	1,86	1,46	1,75	2,47 \pm 0,39
Vd (ml)	1431,24	2524,34	3233,70	1044,97	1057,28	788,15	1679,95 \pm 398,96
r^2	0,9124	0,9424	0,9979	0,9966	0,8984	0,9621	---

TABLA IV.7.- Parámetros cinéticos calculados a partir de las concentraciones plasmáticas de meclofenamatos tras administración endovenosa de meclofenamato sódico (2,2 mg/kg). (Valores individuales; media \pm E.S.M.).

IV.4.- Administración oral.

IV.4.1.- Administración oral de meclofenamato sódico y pretratamiento con suero endovenoso.

Los niveles de glucemia durante la prueba se mantenían constantes en cuatro de las seis ovejas (nº 1, 2, 3 y 4) pero se elevaban significativamente ($> 67,5\%$) en los individuos nº 5 y 6. Esto indicaba que los primeros animales no cerraban la gotera reticular durante el experimento mientras los dos últimos sí lo hicieron (TABLA IV.8).

Tras estudiar estos datos, los animales de esta prueba se han dividido en 2 grupos en los que se analizan separadamente los resultados obtenidos.

Las concentraciones plasmáticas de meclofenamato obtenidas para cada individuo aparecen en la TABLA IV. 9 y la representación gráfica de sus medias frente al tiempo, en la FIGURA IV.6.

En los individuos que no cerraban la gotera reticular se observaba un solo pico de concentración plasmática alrededor de los 60 min post-administración ($8,18 \pm 2,82 \mu\text{g/ml}$). Sus datos se trataron farmacocinéticamente considerando una fase de absorción, una de distribución y otra de eliminación (TABLA IV.10).

Los datos se ajustaron a una ecuación triexponencial:

$$\text{CCP} = 19,29 e^{0,054t} + 10,84 e^{7,74E(-3)t} + 1,63 e^{6,04E(-4)t}$$

Los valores plasmáticos de meclofenamato sódico en las ovejas nº 5 y 6 presentaban dos picos: el primero a los 15 min post-administración ($24,01 \pm 0,63$

$\mu\text{g/ml}$) y el segundo, de menor magnitud ($11,05 \pm 0,54 \mu\text{g/ml}$), a los 45-60 min (FIGURA IV.7).

La presencia de estos dos picos de absorción impidió ajustar los valores a funciones exponenciales clásicas, pero sí se pudieron ajustar las fases de distribución y eliminación a partir del último tiempo máximo y calcular el aclaramiento y el área bajo la curva (de $t=0$ hasta el tiempo de la última concentración detectada) (TABLA IV.11).

Ni las constantes de velocidad de distribución y eliminación ni el aclaramiento difieren de forma estadísticamente significativa ($p > 0,05$) de las calculadas tras administración endovenosa de meclofenamato sódico, aunque sí lo hace la semivida de alfa ($p < 0,05$).

OVEJA Nº	GLUCEMIA (mg/dl)					CIERRE DE GOTERA
	t=0	t=15	t=30	Fisiológico	Durante el cierre	
1	79,0	79,5	88,2	79,8 ± 7,6	> 100,0	NO
2	69,9	71,5	82,1	78,3 ± 8,5	> 98,0	NO
3	85,8	81,3	79,9	81,0 ± 8,4	> 102,0	NO
4	75,8	82,9	81,1	75,5 ± 12,3	> 95,0	NO
5	100,0	120,0	129,0	95,1 ± 13,9	> 120,0	SI
6	79,5	103,3	93,3	81,8 ± 5,0	> 103,0	SI

TABLA IV.8.- Valores de glucemia (mg/dl) obtenidos durante la prueba de administración oral de meclofenamato sódico (20 mg/kg), suero fisiológico endovenoso (0,60-0,95 ml) y glucosa oral (0,625 g/kg). Niveles fisiológicos de cada oveja (media ± E.S.M., n=3). Valor de glucemia cuando se produce el cierre de la gotera reticular a los 15 min de la administración. Evaluación del cierre de la gotera en función de los datos anteriores.

A)

TIEMPO	OVEJA 1	OVEJA 2	OVEJA 3	OVEJA 4	MEDIA \pm E.S.M.
15	3,29	2,21	3,74	3,91	3,29 \pm 0,38
30	7,61	4,40	5,02	3,78	5,20 \pm 0,84
45	10,65	6,11	6,21	3,96	6,73 \pm 1,41
60	10,99	5,36	-	-	8,18 \pm 2,82
90	8,11	3,43	6,62	3,80	5,49 \pm 1,13
120	5,78	3,48	6,05	3,36	4,67 \pm 0,72
150	4,00	3,93	4,73	3,24	3,97 \pm 0,30
180	3,08	2,71	4,66	2,42	3,22 \pm 0,50
300	-	1,53	3,99	2,02	2,51 \pm 0,75
420	2,04	1,16	2,77	1,96	1,98 \pm 0,33
540	1,29	1,12	2,26	0,61	1,32 \pm 0,35
660	1,02	0,90	1,52	-	1,15 \pm 0,19
1440	0,59	0,78	0,48	0,60	0,61 \pm 0,06
1920	0,45	-	-	-	0,45 \pm 0,00
2880	0,32	0,62	0,18	0,18	0,32 \pm 0,10

B)

OVEJA 5	OVEJA 6	MEDIA \pm E.S.M.
24,64	23,37	24,01 \pm 0,63
9,40	3,94	6,67 \pm 4,23
10,50	11,59	11,05 \pm 0,54
10,56	-	10,56 \pm 0,00
8,52	-	8,52 \pm 0,00
6,70	4,75	5,73 \pm 0,97
5,50	3,56	4,53 \pm 0,99
-	3,65	3,65 \pm 0,00
5,24	2,94	4,09 \pm 1,15
4,23	2,74	3,49 \pm 0,74
3,80	2,85	3,32 \pm 0,47
4,28	2,31	3,30 \pm 0,74
1,47	1,07	1,27 \pm 0,20
1,07	-	1,07 \pm 0,00
0,80	0,18	0,49 \pm 0,31

TABLA IV.9.- Concentraciones plasmáticas de meclofenamatos ($\mu\text{g/ml}$) después de la administración oral de meclofenamato sódico (20 mg/kg) y previo tratamiento endovenoso con suero fisiológico (0,60-0,95 ml): A) Individuos que no presentaban cierre de la gotera reticular (Valores individuales; media \pm E.S.M.). B) Individuos que presentaban cierre de la gotera reticular (Valores individuales; media \pm E.S.M.).

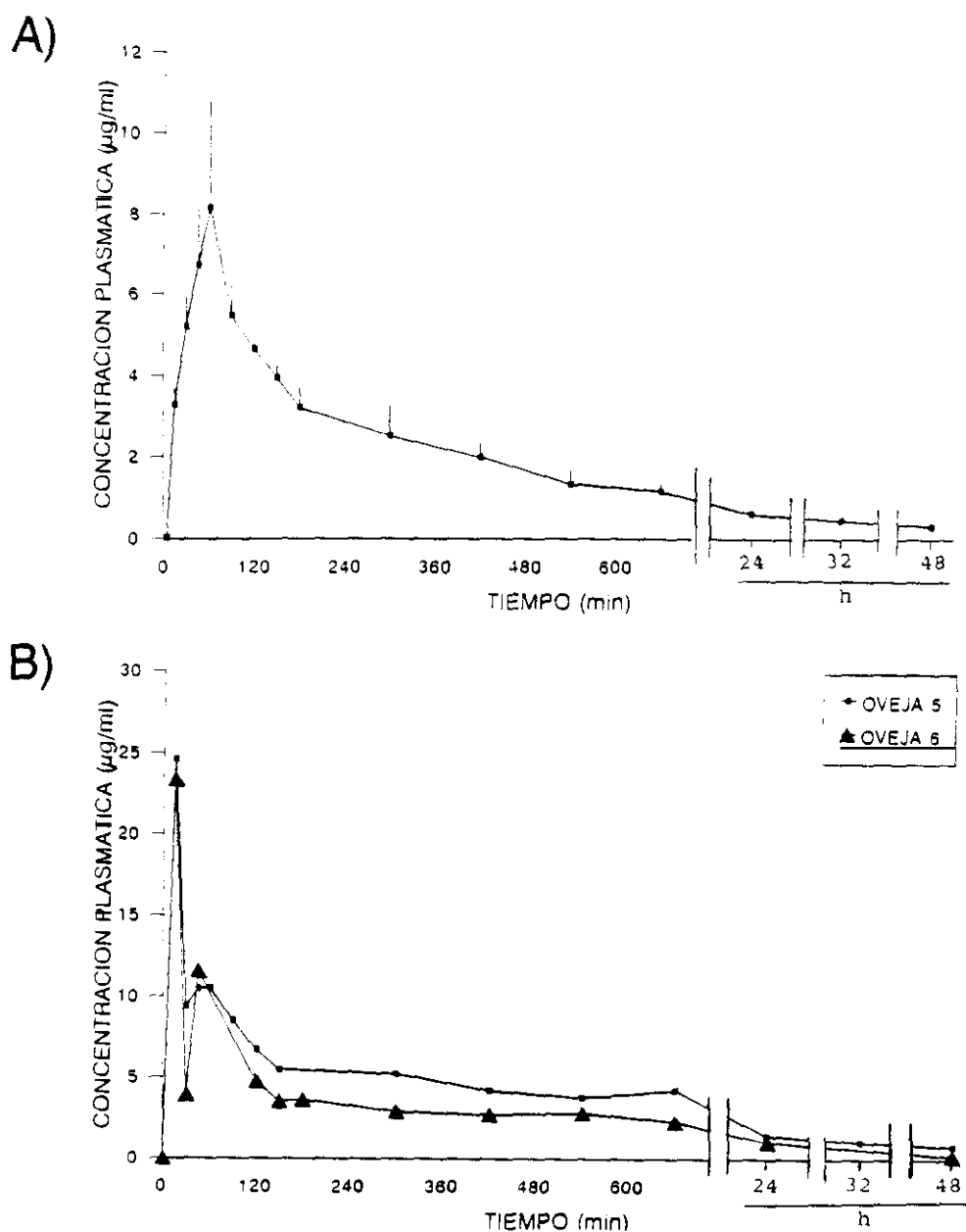


FIGURA IV.6.- Concentraciones plasmáticas de meclizolamato en ovejas frente al tiempo tras administración por vía oral de meclizolamato sódico (20 mg/kg) y pretratamiento con suero fisiológico: A) grupo de ovejas que no cierran la gotera reticular (n=4) (MEDIA \pm E.S.M.); B) grupo de ovejas que cierran la gotera reticular (n=2) (VALORES INDIVIDUALES).

PARAMETROS	OVEJA 1	OVEJA 2	OVEJA 3	OVEJA 4	MEDIA \pm E.S.M.
O ($\mu\text{g/ml}$)	45,15	12,81	9,03	10,16	19,29 \pm 8,66
A ($\mu\text{g/ml}$)	25,53	4,95	6,89	5,99	10,84 \pm 4,91
B ($\mu\text{g/ml}$)	1,92	1,32	1,28	1,99	1,63 \pm 0,19
k_a (10^{-2})(1/min)	5,47	8,45	4,81	2,95	5,42 \pm 1,00
α (10^{-3})(1/min)	15,98	6,10	3,23	5,66	7,74 \pm 0,30
β (10^{-4})(1/min)	6,84	2,88	6,81	7,65	6,04 \pm 1,00
$T_{1/2}$ (min)	12,66	8,20	14,41	23,48	14,69 \pm 3,21
$T_{1/2\alpha}$ (min)	43,36	113,54	214,29	122,44	123,40 \pm 35,08
$T_{1/2\beta}$ (min)	1013,26	2407,66	1017,42	906,288	1336,15 \pm 358,09
AUC ($\mu\text{g}\times\text{min/ml}$)	3328,65	2997,67	3639,60	2347,12	3078,26 \pm 276,72
TMR (min)	1056,67	3144,41	827,06	1048,98	1519,28 \pm 544,32
Vd (ml)	5682,29	12591,15	4237,14	8116,11	7656,67 \pm 1829,20
Cl (ml/min)	2,58	2,18	2,36	1,86	2,24 \pm 0,37
F (%)	48,19	60,46	46,12	24,31	48,62 \pm 4,34
tmax (min)	60	45	90	45	60,00 \pm 10,61
Cmax ($\mu\text{g/ml}$)	10,99	6,11	6,62	3,96	6,92 \pm 1,47
r^2	0,9732	0,9287	0,9797	0,9617	

TABLA IV.10.- Parámetros cinéticos calculados a partir de las concentraciones plasmáticas de meclofenamatos en los individuos que no presentaban cierre de la gotera reticular tras administración oral de meclofenamato sódico (20 mg/kg) y suero fisiológico endovenoso (0,60-0,95 ml). (Valores individuales; media \pm E.S.M.).

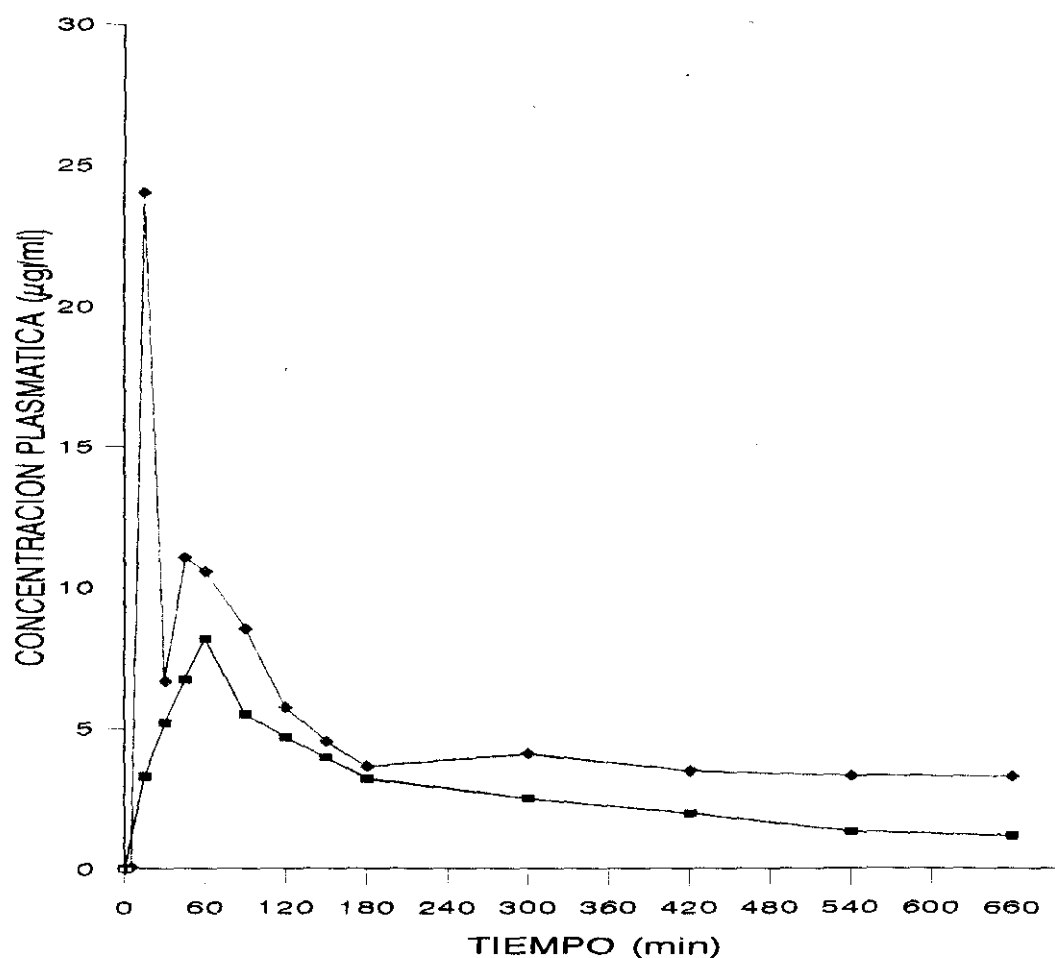


FIGURA IV.7.- Concentraciones plasmáticas de meclofenamato en ovejas frente al tiempo tras administración por vía oral de meclofenamato sódico (20 mg/kg) y pretratamiento endovenoso de suero fisiológico: grupo de ovejas que no cierran la gotera reticular (□) (n=4); grupo de ovejas que cierran la gotera reticular (◆) (n=2) (MEDIA \pm E.S.M.).

PARAMETROS	OVEJA 5	OVEJA 6	MEDIA \pm E.S.M.
A ($\mu\text{g/ml}$)	20,04	23,12	21,58 \pm 1,54
B ($\mu\text{g/ml}$)	5,10	4,66	4,88 \pm 0,22
α (10^{-2})(1/min)	2,27	2,78	2,52 \pm 0,25
β (10^{-4})(1/min)	7,83	11,10	9,46 \pm 1,60
$T_{1/2} \alpha$ (min)	30,54	24,96	27,75 \pm 2,79
$T_{1/2} \beta$ (min)	884,55	626,06	755,30 \pm 129,24
AUC	7350,00	4766,25	6058,12 \pm 1291,87
Cl	1,62	1,82	1,72 \pm 0,10
F (%)	65,62	45,16	55,39 \pm 10,23
t1max (min)	15	15	15,00 \pm 0,00
C1max ($\mu\text{g/ml}$)	24,64	23,37	24,01 \pm 0,63
t2max (min)	60	45	52,50 \pm 7,50
C2max ($\mu\text{g/ml}$)	10,56	11,59	11,08 \pm 0,51
r^2	0,9481	0,9189	

TABLA IV.11.- Parámetros cinéticos calculados a partir de las concentraciones plasmáticas de meclofenamatos en los individuos que presentaban la gotera reticular cerrada tras administración oral de meclofenamato sódico (20 mg/kg) y suero fisiológico endovenoso (0,60-0,95 ml). (Valores individuales; media \pm E.S.M.).

IV.4.2.- Administración oral de meclofenamato sódico y pretratamiento con Lys-Vasopresina endovenosa.

En esta prueba los niveles de glucosa a los 15 y 30 min superaban el 67,5 % en todos los animales, indicando que la gotera reticular se cerraba durante este tiempo en las 5 ovejas (TABLA IV.12).

Los datos de las muestras plasmáticas de la oveja nº 6 no aparecen en las tablas siguientes por alteración del plasma durante el procesado. Los valores de concentraciones plasmáticas de meclofenamato del resto de los individuos se reflejan en la TABLA IV.13 y sus medias se han representado frente al tiempo en la FIGURA IV.8.

En la gráfica aparecen tres picos plasmáticos. El primero ($4,54 \pm 0,42$ $\mu\text{g/ml}$) aparece a los 10 min. Es ligeramente anterior al de las ovejas 5 y 6 de la prueba anterior. El segundo, de mayor entidad que el anterior ($5,28 \pm 2,34$ $\mu\text{g/ml}$), coincide en tiempo ($p > 0,05$) con el pico de los dos grupos de ovejas de la prueba anterior (45-60 min) (FIGURA IV.9). El último, ($3,82 \pm 1,05$ $\mu\text{g/ml}$) aparece a las 7 h post-administración (FIGURA IV.10).

Los parámetros cinéticos calculados en esta prueba se muestran en la TABLA IV.14. Ni el AUC ni la biodisponibilidad difieren estadísticamente ($p > 0,05$) de las encontradas en el primer grupo de ovejas de la prueba con pretratamiento de suero fisiológico.

GLUCEMIA (mg/dl)*						
OVEJA N°	t=0	t=15	t=30	Fisiológico	Durante el cierre	CIERRE DE GOTERA
1	72,6	102,0	87,9	79,8 ± 7,6	> 100,0	SI
2	78,1	95,5	81,6	78,3 ± 8,5	> 98,0	SI
3	78,9	129,0	134,0	81,0 ± 8,4	> 102,0	SI
4	92,3	111,0	110,0	75,5 ± 12,3	> 95,0	SI
5	82,3	139,0	122,0	95,1 ± 13,9	> 120,0	SI

TABLA IV.12.- Valores de glucemia (mg/dl) obtenidos durante la prueba de administración oral de meclofenamato sódico (20 mg/kg), Lys-Vasopresina endovenosa (0,03 U.I./kg) y glucosa oral (0,625 g/kg). Niveles fisiológicos de cada oveja (media ± E.S.M., n=3). Valor de glucemia cuando se produce el cierre de la gotera reticular a los 15 min de la administración. Evaluación del cierre de la gotera en función de los datos anteriores.

TIEMPO	OVEJA 1	OVEJA 2	OVEJA 3	OVEJA 4	OVEJA 5	MEDIA \pm E S M
5	-	-	2,26	1,79	3,09	2,38 \pm 0,38
10	-	-	3,71	4,99	4,93	4,54 \pm 0,42
15	1,12	1,74	3,62	-	3,82	2,60 \pm 0,66
30	0,98	1,59	6,61	6,54	5,09	4,16 \pm 1,21
45	0,95	1,68	10,34	8,17	-	5,28 \pm 2,34
60	1,15	2,29	13,10	3,27	3,31	4,62 \pm 2,16
90	1,72	3,69	9,58	1,20	2,97	3,83 \pm 1,50
120	1,85	4,04	9,66	1,39	3,23	4,03 \pm 1,48
150	1,78	3,36	4,55	1,96	3,69	3,07 \pm 0,53
180	1,69	2,64	4,07	3,92	2,90	3,04 \pm 0,44
300	1,65	2,20	-	-	2,90	2,25 \pm 0,36
420	2,19	1,77	4,78	7,48	2,89	3,82 \pm 1,05
540	1,29	1,54	3,11	4,19	2,08	2,44 \pm 0,54
660	1,35	1,23	1,90	2,62	1,94	1,81 \pm 0,25
1440	0,49	0,49	0,22	1,86	0,70	0,75 \pm 0,29
1920	0,31	0,23	0,33	0,77	0,30	0,39 \pm 0,10
2880	0,18	0,18	0,18	0,47	0,18	0,24 \pm 0,06

TABLA IV.13.- Concentraciones plasmáticas de meclofenamatos ($\mu\text{g/ml}$) a diferentes tiempos después de la administración oral de meclofenamato sódico (20 mg/kg) y Lys-Vasopresina endovenosa (0,03 U.I./kg). (Valores individuales; media \pm E.S.M.).

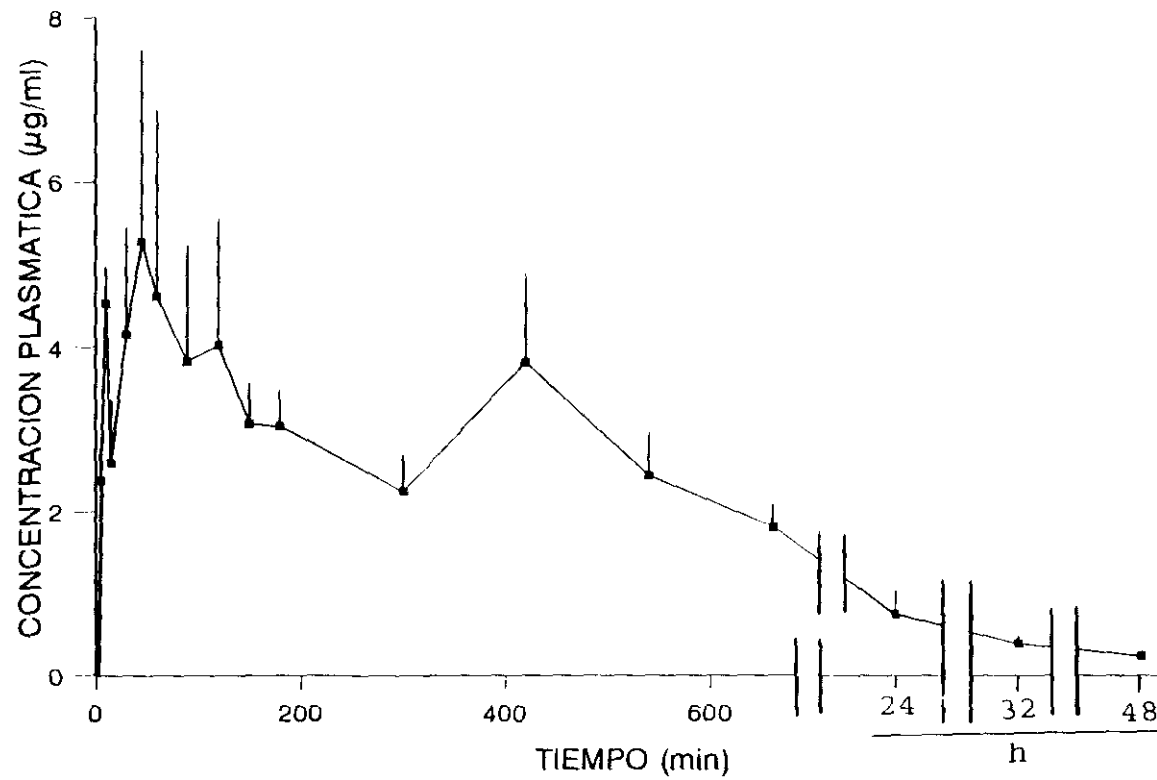


FIGURA IV.8.- Concentraciones plasmáticas de meclofenamato en ovejas frente al tiempo tras administración por vía oral de meclofenamato sódico (20 mg/kg) y pretratamiento con Lys-Vasopresina (0,03 U.I./kg) (MEDIA \pm E.S.M.) (n=5).

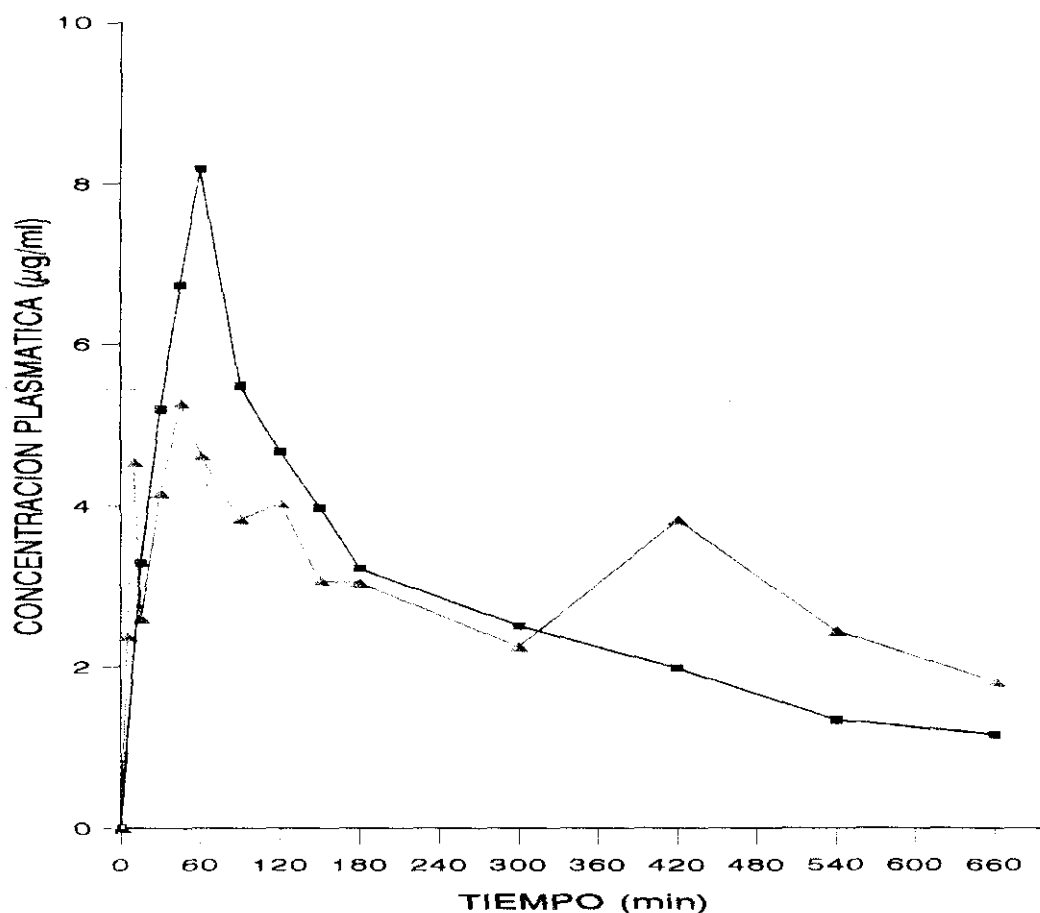


FIGURA IV.9.- Concentraciones plasmáticas de meclofenamato en ovejas frente al tiempo tras administración por vía oral de meclofenamato sódico (20 mg/kg): pretratamiento endovenoso de suero fisiológico sin cierre de gotera reticular (□) (n=4); pretratamiento endovenoso de Lys-vasopresina (0,03 U.I. /kg) (▲) (n=5) (MEDIA \pm E.S.M.).

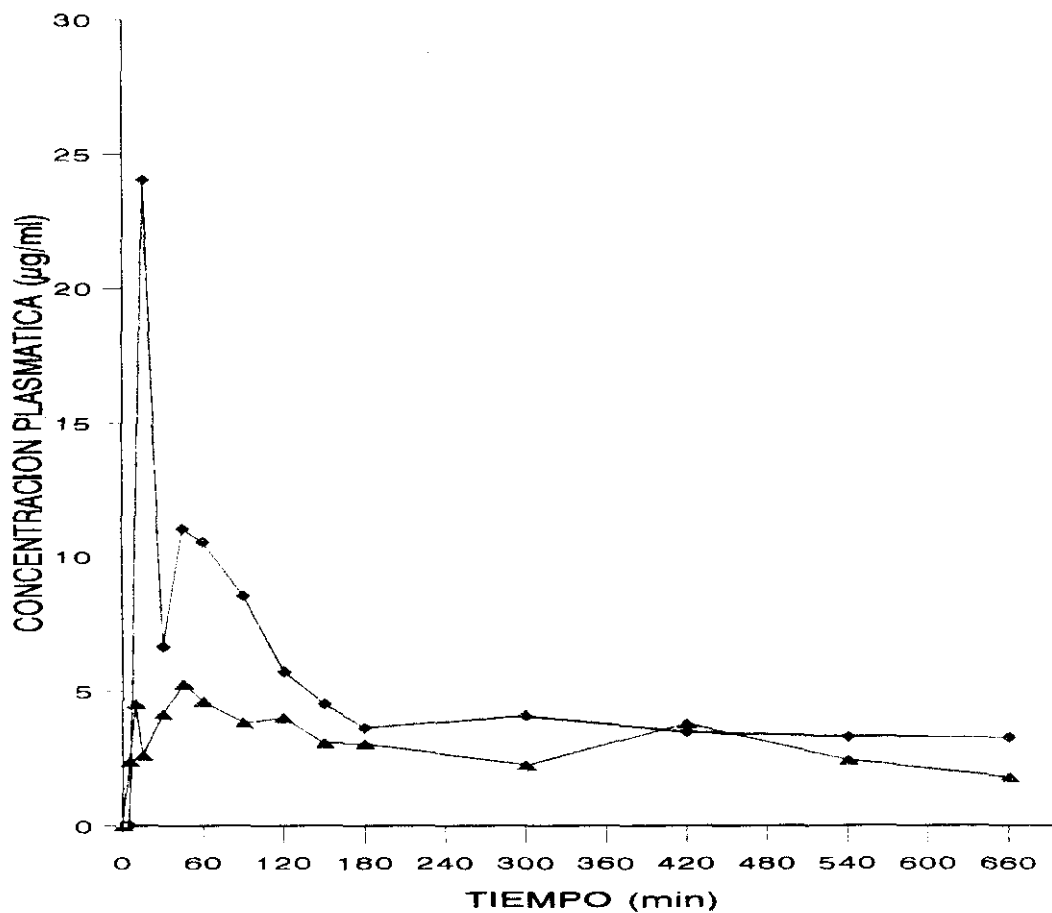


FIGURA IV.10.- Concentraciones plasmáticas de meclofenamato en ovejas frente al tiempo tras administración por vía oral de meclofenamato sódico (20 mg/kg): pretratamiento endovenoso de suero fisiológico con cierre de gotera reticular (◇) (n=2); pretratamiento endovenoso de Lys-vasopresina (0,03 U.I. /kg) (Δ) (n=5) (MEDIA \pm E.S.M.).

PARAMETROS	OVEJA 1	OVEJA 2	OVEJA 3	OVEJA 4	OVEJA 5	MEDIA \pm E.S.M.
C1max (μ g/ml)	1,12	1,74	3,71	4,99	4,93	3,30 \pm 0,80
t1max (min)	15	15	10	10	10	12,00 \pm 1,22
C2max (μ g/ml)	1,85	4,04	13,10	8,17	5,09	6,45 \pm 1,22
t2max (min)	120	120	60	45	30	75,00 \pm 18,97
AUC (μ gxmin/ml)	2192,48	2419,73	4423,75	6023,13	3359,40	3683,70 \pm 705,24
F (%)	31,74	48,80	56,06	62,40	29,99	45,80 \pm 6,47

TABLA IV.14.- Parámetros cinéticos calculados a partir de las concentraciones plasmáticas de meclofenamatos tras administración oral de meclofenamato sódico (20 mg/kg) y Lys-Vasopresina endovenosa (0,03 U.I./kg). (Valores individuales; media \pm E.S.M.).

IV.4.3.- Administración oral de ácido meclofenámico y pretratamiento con suero endovenoso.

Ninguna de las ovejas de esta prueba reflejó el cierre de la gotera reticular en sus niveles plasmáticos de glucosa (TABLA IV.15).

Los niveles del fármaco en plasma para cada individuo y sus medias aparecen en la TABLA IV.16. Las medias y sus E.S.M. se han representado frente al tiempo en la FIGURA IV.11.

El único pico que aparece en la representación gráfica es más ancho y tardío (90-180 min) que en las pruebas realizadas con meclofenamato sódico. No difiere en cuanto a magnitud ($5,35 \pm 0,49 \mu\text{g/ml}$) con los de las pruebas orales anteriores ($p > 0,05$) pero sí en cuanto a tiempo ($p < 0,05$) (FIGURAS IV.12 y IV.13).

Los niveles plasmáticos se ajustan bien a ecuaciones triexponenciales:

$$\text{CCP} = 8,82 e^{1,80E(-2)t} + 4,36 e^{4,22E(-3)t} + 4,44 e^{8,55E(-4)t}$$

rango de r^2 : 0,8218 - 0,9364.

Su fase de absorción no difiere con la de la prueba oral de meclofenamato sódico sin cierre de gotera en cuanto a la constante de velocidad pero sí en su semivida ($p < 0,05$) (TABLA IV.17) (FIGURA IV.12).

Las constantes de velocidad de las fases de distribución y eliminación no presentan diferencias E.S. con las de la prueba con meclofenamato sódico y pretratamiento con suero fisiológico, pero sí con la prueba de administración endovenosa ($p < 0,05$). Con esta última prueba difiere también en el coeficiente (A) ($p < 0,05$) y en la semivida ($p < 0,001$).

A las 48 h post-administración en todas las ovejas todavía se detecta fármaco en concentraciones superiores al límite de detección ($0,18 \mu\text{g/ml}$), a diferencia del resto de las pruebas realizadas.

La biodisponibilidad ($65,10 \% \pm 2,77$) es significativamente mayor que en las otras pruebas orales ($p < 0,05$).

El aclaramiento no varía significativamente entre ninguna de las pruebas por vía oral entre sí, ni entre cada una de ellas y la prueba por vía endovenosa.

OVEJA N°	GLUCEMIA (mg/dl)				Fisiológico	Durante el cierre	CIERRE DE GOTERA
	t=0	t=15	t=30				
3	70,1	78,7	75,4		81,0 ± 8,4	> 102,0	NO
4	63,6	66,3	66,8		75,5 ± 12,3	> 95,0	NO
5	93,1	83,4	92,3		95,1 ± 13,9	> 120,0	NO
6	85,8	72,6	74,5		81,8 ± 5,0	> 103,0	NO

TABLA IV.15.- Valores de glucemia (mg/dl) obtenidos durante la prueba de administración oral de ácido meclofenámico (20 mg/kg), suero fisiológico endovenoso (0,60-0,95 ml) y glucosa oral (0,625 g/kg). Niveles fisiológicos de cada oveja (media ± E.S.M., n=3). Valor de glucemia cuando se produce el cierre de la gotera reticular a los 15 min de la administración. Evaluación del cierre de la gotera en función de los datos anteriores.

TIEMPO	OVEJA 3	OVEJA 4	OVEJA 5	OVEJA 6	MEDIA \pm E.S.M.
15	2,07	1,47	1,74	1,61	1,72 \pm 0,13
30	3,61	2,22	4,80	2,30	3,23 \pm 0,61
45	-	-	5,09	3,42	4,26 \pm 0,83
60	5,34	2,99	5,33	3,57	4,31 \pm 0,60
90	7,33	2,97	7,29	4,23	5,46 \pm 1,10
120	6,46	3,53	-	-	5,00 \pm 1,46
150	5,75	3,98	6,01	5,03	5,19 \pm 0,45
180	4,67	6,30	6,08	4,35	5,35 \pm 0,49
300	4,14	5,53	3,29	4,76	4,43 \pm 0,47
420	2,63	4,86	3,04	5,08	3,90 \pm 0,62
540	3,01	3,96	1,82	4,46	3,31 \pm 0,58
660	2,40	3,11	2,56	2,84	2,73 \pm 0,16
1440	0,96	1,48	1,13	0,87	1,11 \pm 0,13
1920	0,67	0,91	0,61	0,70	0,72 \pm 0,06
2880	0,68	0,25	0,43	0,27	0,41 \pm 0,10

TABLA IV.16.- Concentraciones plasmáticas de meclofenamatos ($\mu\text{g/ml}$) a diferentes tiempos después de la administración oral de ácido meclofenámico (20 mg/kg) y suero fisiológico endovenoso (0,60-0,95 ml). (Valores individuales; media \pm E.S.M.).

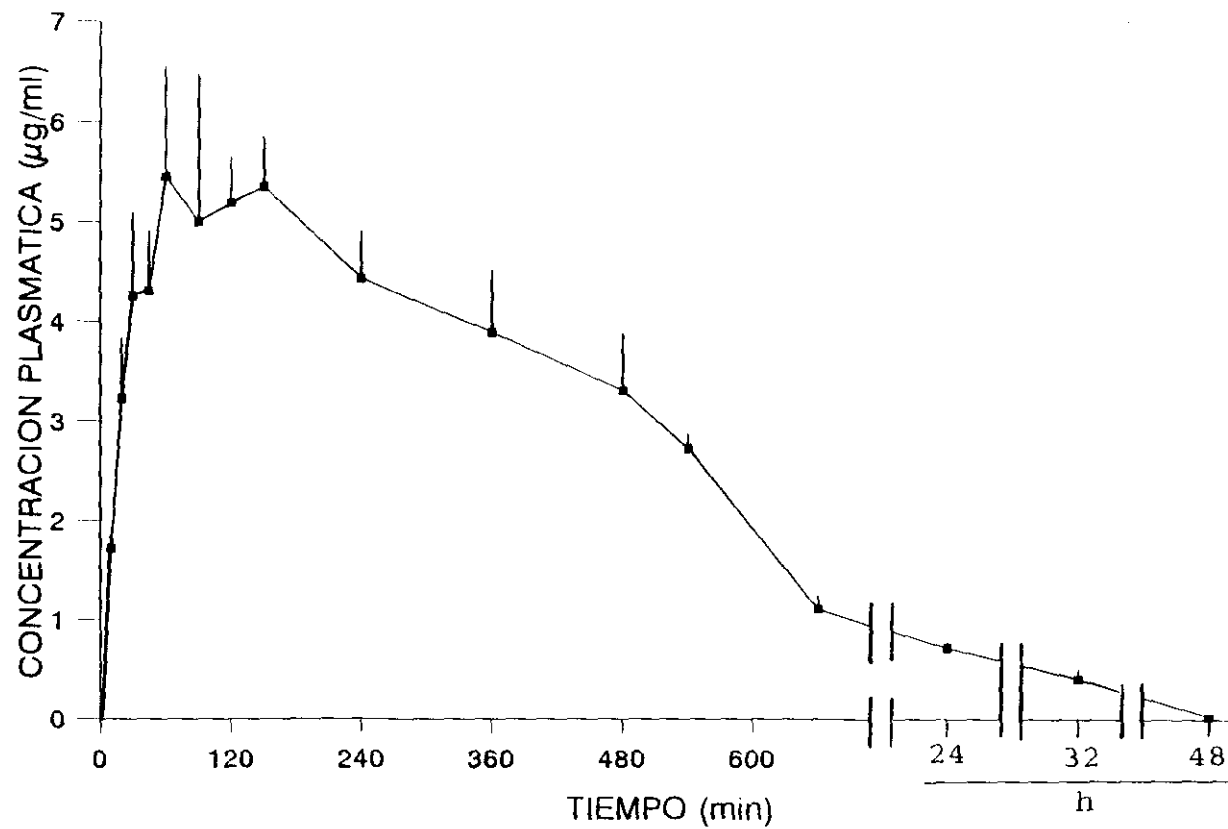


FIGURA IV.11.- Concentraciones plasmáticas de meclofenamato en ovejas frente al tiempo tras administración por vía oral de ácido meclofenámico (20 mg/kg) y pretratamiento con suero fisiológico (MEDIA \pm E.S.M.; n=4).

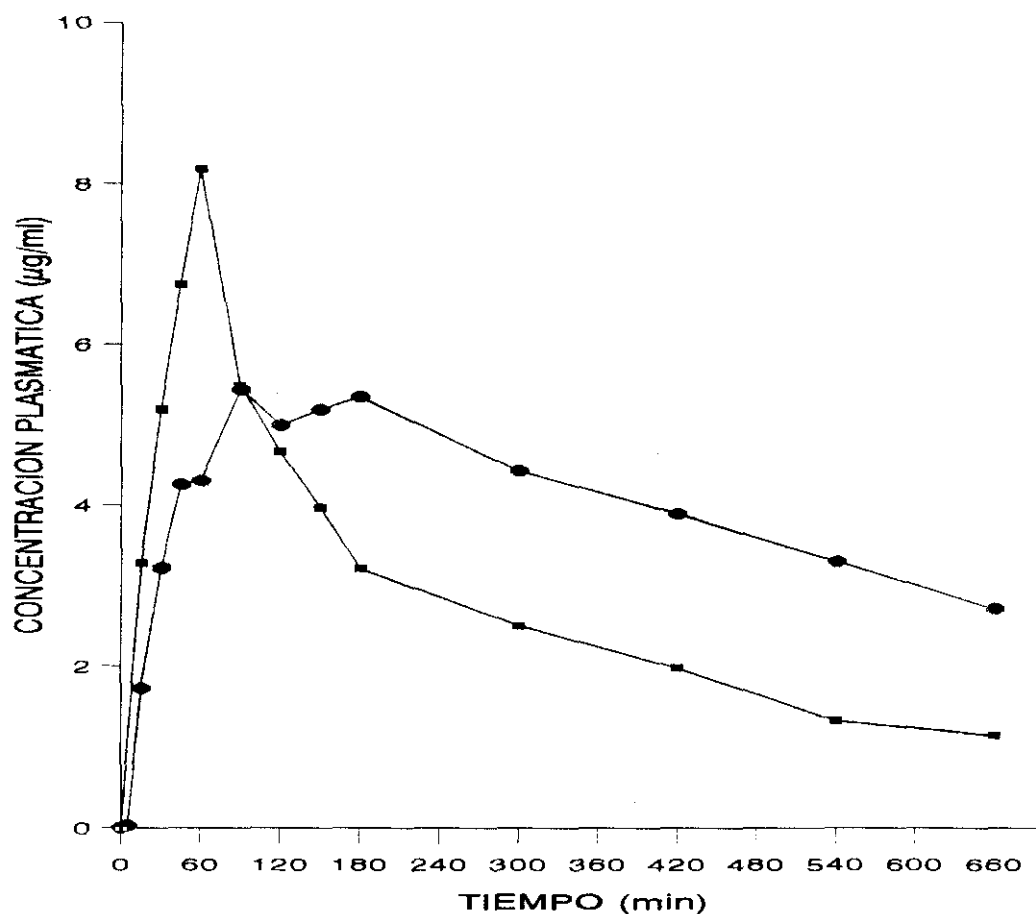


FIGURA IV.12.- Concentración plasmática de meclofenamato en ovejas frente al tiempo: administración por vía oral de meclofenamato sódico (20 mg/kg), pretratamiento con suero fisiológico y sin cerrar la gotera reticular (□) (n=4); administración por vía oral de ácido meclofenámico (20 mg/kg) (○) (n=4) (MEDIA \pm E.S.M.).

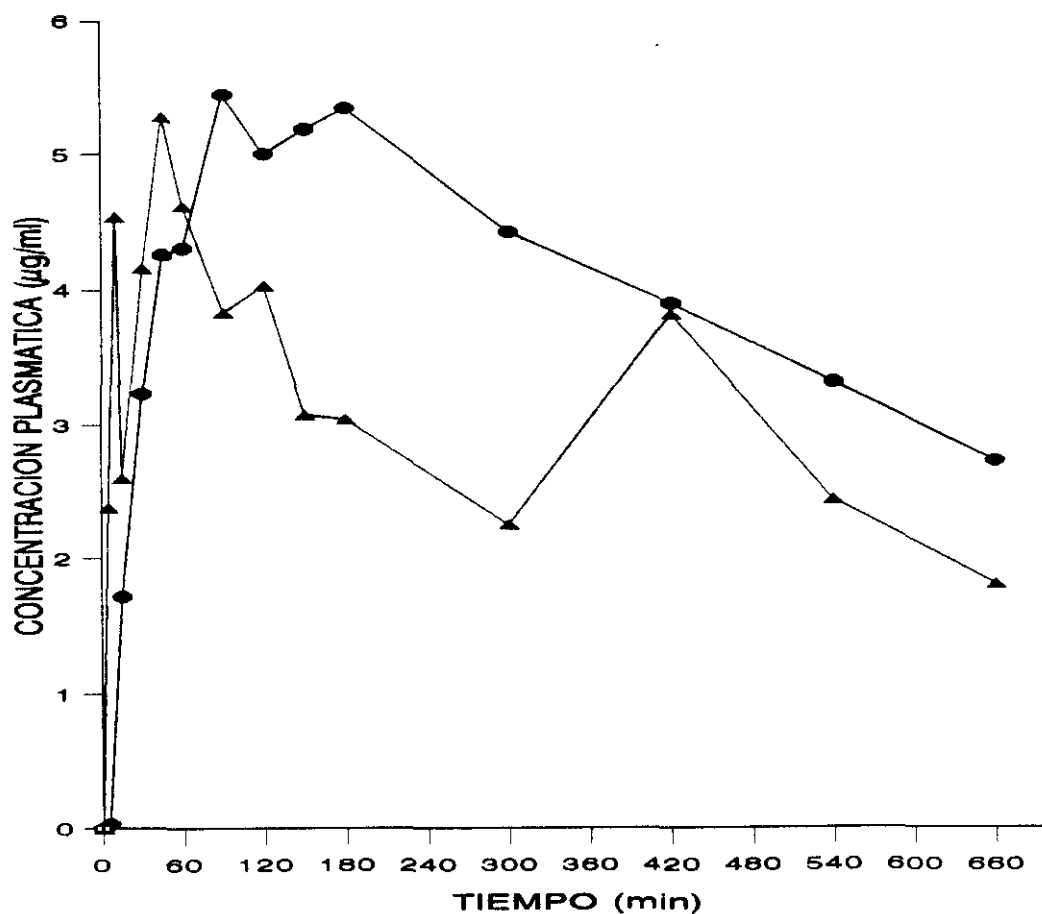


FIGURA IV.13.- Concentración plasmática de meclofenamato en ovejas frente al tiempo: administración por vía oral de meclofenamato sódico (20 mg/kg), pretratamiento con Lys-vasopresina (0,03 U.I./kg) (●) (n=5); administración por vía oral de ácido meclofenámico (20 mg/kg) (▲) (n=4) (MEDIA \pm E.S.M.).

PARAMETROS	OVEJA 3	OVEJA 4	OVEJA 5	OVEJA 6	MEDIA \pm E.S.M.
O ($\mu\text{g/ml}$)	9,89	7,40	11,81	6,18	8,82 \pm 1,26
A ($\mu\text{g/ml}$)	5,87	1,43	7,01	3,15	4,36 \pm 1,26
B ($\mu\text{g/ml}$)	3,43	7,18	2,46	4,71	4,44 \pm 1,02
Ka (10^{-2})(1/min)	2,48	6,29	3,28	8,13	1,80 \pm 0,65
α (10^{-3})(1/min)	5,36	4,60	5,06	1,85	4,22 \pm 0,80
β (10^{-4})(1/min)	6,72	1,13	6,27	9,92	8,55 \pm 1,22
T $\frac{1}{2}$ O (min)	27,89	110,12	21,11	85,17	61,07 \pm 21,76
T $\frac{1}{2}$ α (min)	129,28	150,80	137,05	375,21	198,08 \pm 59,21
T $\frac{1}{2}$ β (min)	1030,99	609,98	1105,00	698,34	861,08 \pm 121,76
AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{min/ml}$)	4860,6	5766,68	4823,33	5096,85	5136,86 \pm 218,50
TMR (min)	1341,29	997,84	1316,76	986,22	1160,53 \pm 97,44
Vd (ml)	4510,22	2551,01	4341,00	2910,54	3578,19 \pm 495,93
Cl (ml/min)	2,22	2,43	2,03	6,15	3,21 \pm 0,98
F (%)	61,60	73,08	61,13	64,59	65,10 \pm 2,77
t _{max} (min)	90	180	90	150	127,5 \pm 22,5
C _{max} ($\mu\text{g/ml}$)	7,33	6,30	7,29	5,03	6,49 \pm 0,54
r ²	0,9364	0,8218	0,9294	0,9335	

TABLA IV.17.- Parámetros cinéticos calculados a partir de las concentraciones plasmáticas de meclofenamatos tras administración oral de ácido meclofenámico (20 mg/kg) y suero fisiológico endovenoso (0,60-0,95 ml). (Valores individuales; media \pm E.S.M.).

V.- DISCUSSION

V.- DISCUSION

V.1.- DEL METODO

V.1.1.- Método analítico.

Para la detección y cuantificación de las concentraciones de meclofenamatos en plasma se ha utilizado un método analítico que consideramos válido, dados los resultados que ha presentado en las pruebas de control. La linealidad (entre 0,5 y 30 $\mu\text{g/ml}$), la reproducibilidad (variaciones $< 8\%$) y el límite de detección ($< 0,2 \mu\text{g/ml}$) se consideran apropiados, teniendo en cuenta los niveles plasmáticos terapéuticos y esperados del fármaco (0,5-5 $\mu\text{g/ml}$).

El método permitía separar claramente el frente de picos cromatográficos debidos a los componentes plasmáticos y del contenido ruminal del pico del meclofenamato sódico con una proporción de 60:40 en la fase móvil (acetonitrilo:agua pH=2,5). Con las otras proporciones probadas (50:50 y 40:60) no se obtenía tan buena resolución. Además, la recuperación a partir de plasma (90,26%) y de contenido ruminal (85,72%) de oveja era elevado.

Tanto las muestras de plasma como las de contenido ruminal podían mantenerse en congelación ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$) sin alterar la concentración de fármaco durante un margen de tiempo de al menos 30 días, lo que permitía realizar las pruebas con un amplio margen de tiempo y confianza.

No se han seguido los métodos analíticos descritos previamente por problemas de reproducción de los mismos. KOUP y col. (1990) trabajaron con una fase móvil compuesta por metanol:agua:tetrabutilamonio (70:30:0,005M) y medían

a una longitud de onda de 340 nm; el resto de los parámetros era similar a los utilizados por nosotros. Con estas condiciones no conseguimos en ningún momento detectar meclofenamato sódico en el eluyente durante los primeros 30 min de cromatograma. Tampoco conseguimos ningún resultado positivo cambiando la longitud de onda a 280 ni a 226 nm.

En cuanto a la reproducibilidad de los trabajos de JOHANSSON y col (1991), en los que se trabajaba sin par iónico, con una fase móvil muy parecida a la utilizada en nuestro método, sin par iónico, trabajando con una longitud de onda de 280 nm, no se obtenía buena resolución de picos y el límite de detección era bajo. Por ello, se realizó el barrido espectrofotométrico entre 210 y 400 nm para encontrar la longitud de onda de mayor absorbancia (226 nm) del meclofenamato sódico. Con este parámetro en el detector se mejoraron considerablemente las calidades del método.

Se intentó también utilizar un patrón interno que facilitara el trabajo de procesado de datos. Se tomó el ácido p-toluico como posible sustancia patrón por ser el utilizado en la cromatografía de separación e identificación de diferentes AINE (BASELT, 1987). Con las condiciones cromatográficas ensayadas, no se detectaba esta sustancia en los primeros 30 min del cromatograma, por lo que se desechó su uso. Según algunos autores, en ocasiones el uso del patrón interno no aporta ninguna ventaja sobre la calibración externa (HAEFELFINGER, 1981).

El procesado de las muestras se basó en la desproteinización con una solución ácida (HCl, 6N), como indicaban KOUP y col. (1990) y en una extracción con solventes orgánicos. Se probó la desproteinización con sustancias básicas, como acetonitrilo; se obtuvieron muestras con un frente inicial más despejado pero desaparecía el pico del fármaco en el registro. Como solventes orgánicos se han

probado: diclorometano (JOHANNSON y col., 1991) y etanol:tolueno (20:80) (KOUP y col., 1990). Con ambos se extraía bien el producto pero con el primero se necesitaba menor volumen y presentaba mayor velocidad de evaporación a la temperatura necesaria para que los meclofenamatos no se alteren.

V.1.2.- Comprobación del cierre de la gotera reticular.

Existe un método probado y utilizado en pruebas terapéuticas para provocar y comprobar, a la vez, el cierre de la gotera reticular en vacas adultas (MIKHAIL, 1987). A pesar de la validez de este método, algunos autores que han intentado ponerlo en práctica en cabras no han obtenido resultados fiables en cuanto a la reproducibilidad de cierre (NIJMEIJER y col., 1990). Por ello, se necesitaba una validación y puesta a punto del método en ovejas antes de utilizarlo como base de las pruebas farmacológicas que planeamos realizar.

La elección de este método, tanto en cuanto a la forma de provocar el cierre como a la de verificarlo se ha basado en la fiabilidad y viabilidad del mismo, interfiriendo en la menor medida posible con las pruebas de administración de meclofenamato sódico.

Dentro de los métodos conocidos para provocar el cierre de la gotera reticular, la administración de Lys-Vasopresina o de extractos post-hipofisarios es el único que ofrece fiabilidad y éxito en más del 75 % de los casos y está admitido por la mayoría de los autores. La administración de sales por vía endovenosa o por vía oral no provocaban el cierre en menos del 50 % de los casos y, cuando lo provocaban, en una intensidad muy variable. El reflejo condicionado, propuesto por ORSKOV (1982) ofrece un elevado porcentaje de éxito en los animales bien entrenados, pero no es un método práctico ni económico. Quizá sea más interesante en la práctica de la nutrición para aumentar el aprovechamiento de suplementos proteicos (que fue para lo que se diseñó) pero no es rentable para administrar esporádicamente fármacos por vía oral.

En cuanto a la detección del cierre creemos que el método de la glucemia

(RIEK, 1954) es válido siempre que se realicen patrones previos con los animales en estudio. Los métodos directos de observación por fístula, radioescopia o radiografías seriadas son más evidentes pero en nuestro caso dificultarían y podrían falsear las pruebas cinéticas (inhibición refleja de la motilidad de los proventrículos por causa de la fístula, reacciones entre los marcadores radiológicos y el fármaco).

La técnica en un principio fue reproducción exacta de la utilizada por MIKHAIL (1987), con 0,03 U.I./kg de Lys-vasopresina 10 min antes de la administración oral de glucosa (1g/kg) y determinación de glucemia cada 15 min durante la primera hora post-administración. Los resultados obtenidos en tres ovejas con suero fisiológico endovenoso frente a Lys-vasopresina no mostraba diferencias significativas ya que los niveles de glucemia aumentaban en los dos casos. Se disminuyó la dosis de glucosa a 0,625 g/kg y el volumen de administración (de 50 ml a 30 ml), mejorando los resultados obtenidos y con diferencias significativas a los 15 y 30 min de la administración de glucosa, con patrones similares a los de vacas.

La explicación de este hecho creemos que se encuentra más en el volumen de administración ya que en ovejas, 50 ml supone un porcentaje considerablemente mayor frente al volumen del reticulorumen que en vacas y podría llegar incluso a crear un estrato líquido superior de paso rápido a abomaso o mediante cierre de gotera por estímulo orofaríngeo.

Aunque se hicieron pruebas de control previas en todas las ovejas utilizadas, durante los experimentos cinéticos con meclofenamato sódico se llevaron a cabo unos controles de cierre. Estos consistían en medir la glucemia en las muestras correspondientes a los tiempos en que este parámetro varía significativamente entre los estados de apertura y cierre de gotera (0-30 min).

De hecho, la necesidad de esta comprobación queda demostrada en el comportamiento anómalo de las ovejas nº 5 y 6 durante la prueba de administración oral de meclofenamato sódico con pretratamiento de suero fisiológico. El control de cierre demostró que estos dos individuos cerraban la gotera reticular, en contra de lo esperado.

No fue necesaria la adicción de protectores de glucosa ya que, en todas las pruebas, las muestras se recogían en jeringas heparinizadas y se analizaban en un periodo de tiempo máximo de 3 min post-extracción (LAVIN y col., 1989).

V.1.3.- Administración de meclofenamatos por distintas vías.

Las dosis utilizadas durante las pruebas se han tomado en base a las dosis terapéuticas en ovejas y en otras especies. Por vía endovenosa, las dosis recomendadas en todas las especies oscilan entre 2,0 y 2,2 mg/kg (BOOTH, 1982; KOUP y col., 1990; AITKEN y SANFORD, 1975).

Por vía oral, las dosis son muy variables, en animales monogástricos son de 1,40 mg/kg en administraciones repetidas y 4,23 mg/kg para administración única en humana (SERRANO y SERRANO, 1993) y de 2,2, mg/kg en équidos. Las dosis utilizadas en estas especies son mucho menores debido a la inexistencia del volumen de dilución del reticulorumen y no pueden extrapolarse a animales poligástricos.

De las dosis ensayadas en rumiantes se vio que 2 mg/kg era insuficiente para poder detectar el fármaco en plasma por encima de 0,5 μ g/ml (AITKEN y SANFORD, 1975). En vacas se ha probado también la administración de 10 mg/kg aunque en ovejas sólo se ha trabajado con 20 mg/kg, que ha sido la dosis utilizada por nosotros.

Las soluciones preparadas para administrar los fármacos tenían como solvente agua:polietilenglicol 250 (75:25), tanto para vía endovenosa como para vía oral. El polietilenglicol se utilizó para aumentar la solubilidad de los meclofenamatos en soluciones acuosas y así reducir el volumen de inyección.

En las pruebas de administración endovenosas se partió de una misma solución (0,1 g/ml) de la que se administraron volúmenes variables según el peso del individuo (0,84-1,25 ml). Sin embargo, en las pruebas de administración oral se prepararon soluciones especiales para cada animal, con diferentes concentraciones

de meclofenamatos y de glucosa para que se mantuvieran constantes la dosis y el volumen de administración a pesar de las diferencias de peso de las ovejas. El motivo de esta medida fue evitar un posible estímulo de reflejo de cierre por diferencia de volúmenes de administración que pudieran falsear las pruebas.

En función de la solubilidad del meclofenamato sódico y de la glucosa en el solvente se buscó un volumen mínimo de administración (30 ml), que se encontraba dentro de los rangos utilizados por otros autores para administración vía oral a ovejas (2-150 ml) (WANG y col., 1990; MARRINER y BOGAN, 1979).

En cuanto a la administración de los pretratamientos endovenosos los volúmenes coincidían para un mismo individuo entre los pretratamientos con suero fisiológico y con Lys-Vasopresina. Estos se calcularon a partir de la dosis de Lys-Vasopresina administrada a partir de una solución comercial (18 U.I./ml). El periodo de tiempo entre el pretratamiento y el tratamiento fue de 10 min, el mismo utilizado en las pruebas de comprobación de cierre de gotera entre el pretratamiento y la administración oral de glucosa y en otras pruebas terapéuticas con cierre de gotera (MIKHAIL, 1987; más citas).

Los tiempos de toma de las muestras de sangre se dispusieron en función de los datos previos de administraciones orales en ovejas y vacas para el mismo fármaco (MARRINER y BOGAN, 1979; AITKEN y SANFORD, 1975) y teniendo en cuenta los tiempos que tardan los distintos estratos del reticulorrumen en progresar hasta abomaso (FAICHNEY, 1984). Por ello, en la vía oral se tomaron muestras continuadas hasta las 11 h post-administración y aisladas hasta las 48 h. En la vía endovenosa sólo se hizo el seguimiento hasta las 24 h.

En la prueba de administración oral de meclofenamato sódico y

pretratamiento con Lys-Vasopresina se aumentó el número de tomas en los momentos iniciales del experimento. Ante la posible presencia de un pico de concentración anterior a los 15 min, en el resto de los individuos se tomaron muestras de sangre a los 5 y 10 min.

La prueba con ácido meclofenámico endovenoso fue descartada por la dificultad que planteaba su baja solubilidad y su carácter excesivamente irritante (WINDER y col., 1966). Además, las dos formas (ácido y sal sódica) se han de comportar de igual forma una vez ionizadas en el torrente sanguíneo.

La administración oral de ácido meclofenámico con pretratamiento de Lys-Vasopresina fue reservada sólo para realizarse en el caso de que la sal y el ácido no se comportaran con un mismo patrón tras el pretratamiento con suero fisiológico. Como estas diferencias de comportamiento no se produjeron, valoramos que los posibles datos obtenidos de este experimento sobre la biodisponibilidad de los meclofenamatos no justificaban el prolongar el mantenimiento de los individuos en condiciones de experimentación durante más tiempo.

V.1.4.- Tratamiento farmacocinético y estadístico.

El tratamiento farmacocinético de los datos, después de todo lo expuesto en la revisión bibliográfica se comprende que es muy complejo siempre que se trata de fármacos administrados por vía oral a rumiantes. No se deben intentar ajustar a un modelo clásico compartimental ya que se estarían cometiendo errores de omisión de factores que afectan al proceso cinético (KORITZ, 1983; BOGAN y MARRINER, 1987). Además, nuestros objetivos no se centran en aportar un estudio cinético clásico de los meclofenamatos en ovejas.

Por todo ello, hemos optado por un ajuste no lineal de los datos a fórmulas que definen fases de absorción, distribución y eliminación, en los casos en que sea posible. El ajuste se ha realizado con varios exponentes tomando como mejor aquel que presentaba menor número de exponentes para un índice de ajuste $r^2 > 0,90$.

El tratamiento era más complicado cuando existían varios picos de absorción con distintas K_a , debidas al paso del meclofenamato sódico a través de las paredes de los distintos compartimentos gástricos (FIGURA V.1), cuyo orden lógico de aparición (reticulorumen, omaso, abomaso, intestino delgado) puede verse alterado por efecto del cierre de la gotera reticular.

Por este motivo, el área bajo la curva de concentraciones plasmáticas se ha calculado por el método trapezoidal, que es independiente del modelo farmacocinético utilizado y es válida para el cálculo de aclaramiento, volúmenes de distribución y biodisponibilidades (BAGGOT, 1983).

Además, el cierre de esta estructura no asegura el paso del 100% del fármaco administrado a abomaso, con lo que no sólo existe la K_a abomasal sino otra K_a

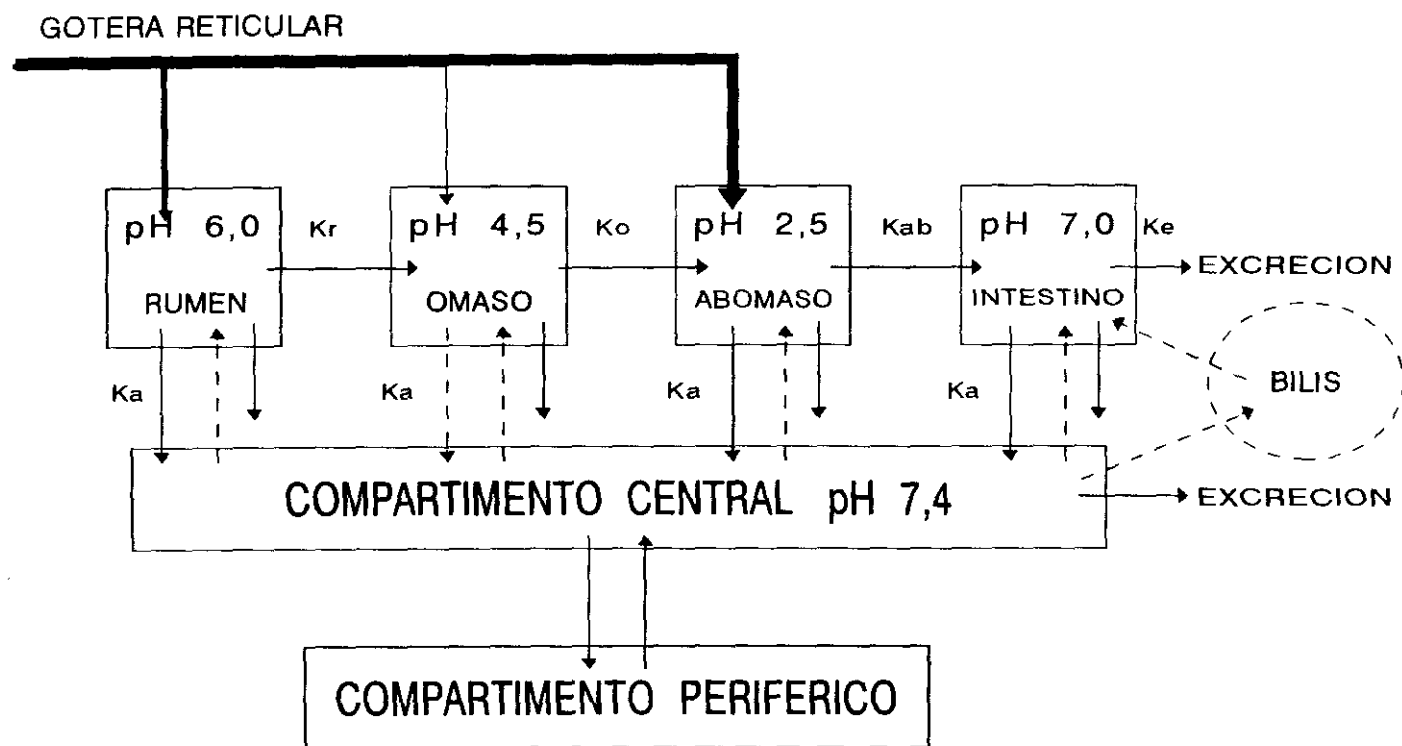


FIGURA V.1.- Modificación del modelo farmacocinético fisiológico-compartmental de absorción de fármacos administrados vía oral en rumiantes propuesto por Koritz (1987) teniendo en cuenta el cierre de la gotera reticular.

ruminal. Estos datos sólo se podrían conocer realizando pruebas de administración intrarruminal e intraabomasal.

Habría que unir a todos estos factores de absorción la K_e debida al metabolismo del interior de la cavidad reticulorruminal que no podemos valorar de ninguna forma con los datos de que disponemos (DUNLOP, 1983).

Hay que señalar que en la prueba con meclofenamato sódico y pretratamiento con suero fisiológico las ovejas 5 y 6 que cerraron gotera en contra del pronóstico, se trataron farmacocinética y estadísticamente por separado. Quedaron dos grupos de ovejas ($n=4$ y $n=2$) de los que el de menor tamaño no tenía casuística suficiente para realizar comparación estadística de medias muestrales con otros grupos de diferentes tratamientos.

V.2.- DE LOS RESULTADOS.

La discusión de los resultados obtenidos en las pruebas de administración de meclofenamatos por diferentes rutas en ovejas es difícil, dado el escaso número de trabajos encontrados que tengan relación con este tema.

Además, las experiencias en otras especies son difícilmente extrapolables a ovejas por varias razones. Las diferencias anatómicas y funcionales del aparato digestivo no nos permiten comparar resultados ni dosis utilizadas con animales monogástricos (caballo) que son la principal fuente de información. El uso terapéutico diferente: en procesos crónicos en humana (KROUP y col., 1990; SERRANO y SERRANO, 1993) y en caballos (BOOTH, 1982; BRANDER y col., 1982) frente a tratamiento y prevención de procesos agudos.

Todos estos factores hacen que los regímenes de administración y la posología sean diferentes: dosis bajas, varias veces al día durante varios días en el tratamiento de procesos crónicos y dosis únicas y elevadas en la terapéutica en rumiantes. Todo ello se une a que los niveles terapéuticos de meclofenamatos requeridos para que el tratamiento sea eficaz es más bajo en los procesos crónicos ($1,2 \mu\text{g/ml}$) (RILEY y col., 1971) que en los procesos de anafilaxia aguda ($2 \mu\text{g/ml}$) (AITKEN y col., 1975).

Los niveles plasmáticos de meclofenamatos en rumiantes reflejados en las publicaciones encontradas han aportado la base y las ideas previas para la realización de este trabajo (AITKEN y SANFORD, 1975; MARRINER y BOGAN, 1979; COOKE y NICHOLSON, 1981).

En la única referencia encontrada en cabra se trabaja con dosis múltiples por

vía oral de 12,5-17 mg/kg de meclofenamato sódico, repetidas durante 3-4 días. Los datos de este trabajo no se han podido comparar con los obtenidos por nosotros en ovejas, con dosis únicas.

Durante las pruebas realizadas hemos utilizado dosis que se asemejan a las utilizadas en la terapéutica de estas especies, aunque en nuestros objetivos no se encuentra el establecer una pauta terapéutica para el uso de los meclofenamatos en ovejas.

V.2.1.- Administración endovenosa.

Tras la administración endovenosa de meclofenamato sódico se han obtenido unos niveles plasmáticos en los que podemos distinguir dos etapas: una de caída rápida y otra de disminución lenta. Este mismo patrón se ha observado en pruebas similares realizadas en ganado vacuno (AITKEN y SANFORD, 1975).

La primera fase tiene una duración aproximada de 20-30 min y una semivida de 7,18 min, lo que indica que es más corta que en vacas (1 h). Posiblemente sea originada por una rápida distribución del fármaco en el líquido extracelular. La segunda sería fruto del metabolismo y la excreción de los meclofenamatos.

La semivida de la fase de eliminación en vacas es 4 h; más breve que la calculada en ovejas partiendo de nuestros experimentos (542,35 min). Su duración en vacas es de 11 h, frente a 22 h en ovejas. En algunos de los individuos, a las 12 h ya no se detectaba meclofenamato en plasma, a pesar de tener un límite de detección muy bajo (0,06 $\mu\text{g/ml}$); en ovejas hemos encontrado niveles de fármaco superiores a 0,18 $\mu\text{g/ml}$ hasta las 24 h en algunos animales.

El volumen de distribución calculado (1679,95 ml) supone un 33,59% del peso medio corporal de las ovejas que se debe posiblemente al elevado porcentaje de unión a proteínas plasmáticas que sufren los meclofenamatos. Esto no nos permite saber, a partir de estos datos, si el fármaco pasa en elevada proporción a los diferentes tejidos (WAGNER, 1983).

Los niveles plasmáticos de fármaco obtenidos durante todo el experimento han sido superiores en ovejas que en vacas, a pesar de que la dosis utilizada fuera un 10% mayor en esta especie (2,2 mg/kg). A los 5 min de administración, en

ovejas se alcanzó un nivel medio de 20,35 $\mu\text{g/ml}$ y en vacas, al mismo tiempo, 8,8 $\mu\text{g/ml}$.

A pesar de que estos niveles sean superiores, a partir de los 30 min se encuentran por debajo 2 $\mu\text{g/ml}$. En diversos trabajos sobre el tratamiento y la prevención de procesos anafilácticos en terneros se ha señalado que la dosis terapéutica mínima es 2 $\mu\text{g/ml}$ (BURKA y EYRE, 1974; BURKE y SCARNELL, 1978; AITKEN y col., 1975). Por ello, al igual que en vacas, la vía endovenosa no es por sí sola una buena elección terapéutica, y se deberían probar combinaciones con administración del fármaco por otras vías para solucionar este problema (AITKEN y SANFORD, 1975).

V.2.3.- Administración oral.

En todas las pruebas en las que se ha calculado el aclaramiento de meclofenamatos se han obtenido valores muy homogéneos, no encontrándose diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre los valores de las pruebas orales entre sí ni entre éstos y los de administración endovenosa. Este hecho significa que la velocidad con que el fármaco es eliminado del torrente sanguíneo es igual, una vez alcanzados los niveles máximos de concentración plasmática.

La semivida de la fase de distribución no presenta diferencias significativas entre las pruebas por vía oral ($p > 0,05$) pero sí resulta significativamente distinta entre cada uno de los experimentos con administración oral frente a la administración endovenosa ($p < 0,05$, en todos los casos). La evaluación de estos datos no es clara; aparentemente la distribución de los meclofenamatos tras su administración endovenosa es más rápida que tras administración oral y no varía con la forma química del fármaco empleada. Sin embargo, la superposición de fenómenos de absorción en los distintos compartimentos sobre las fases de distribución y eliminación puede estar transformando los valores de algunos parámetros. Este fenómeno, denominado de "flip-flop", cuando se presenta, aumenta la semivida de la droga en el organismo (BAGGOT, 1992).

La fase de eliminación parece producirse con una velocidad semejante en todos los casos, incluida la prueba de administración endovenosa, como indica la ausencia de diferencias significativas entre la constante β y la semivida de la fase de eliminación, entre ningún par de pruebas. En los experimentos realizados en ovejas por vía oral y ruminal, la semivida de esta fase de eliminación es de 4 h (MARRINER y BOGAN, 1979), coincidiendo con los resultados en vacas (AITKEN y SANFORD, 1975).

Dado que las dosis utilizadas de meclofenamato sódico no eran las mismas en todos los experimentos y que los niveles plasmáticos máximos también variaban entre las diferentes pruebas, es lógico que el coeficiente A presente diferencias significativas entre las pruebas por vía oral y endovenosa ($p < 0,01$; $p < 0,001$). Sin embargo, no difiere entre las pruebas con las diferentes formas químicas, ambas con pretratamiento de suero, ya que tampoco difieren significativamente ni sus constantes α ni sus concentraciones máximas.

El volumen de distribución, en aquellas pruebas orales en las que se ha podido calcular, es significativamente mayor que en la prueba de administración endovenosa. Oscila entre un 71,6% y un 93% del peso corporal medio. Al ser superior al 60%, que es el porcentaje aproximado de agua intersticial, se podría suponer que el fármaco ha penetrado en una elevada proporción en los tejidos y que llega incluso a acumularse en ellos (WATSON, 1983). Sin embargo, se ha comprobado que el elevado volumen del rumen, en el que el fármaco se puede disolver, es capaz de aumentar el volumen de distribución (WATSON y col., 1987).

El número de concentraciones plasmáticas máximas a diferentes tiempos varía con el tipo de prueba realizada, fundamentalmente por el pretratamiento recibido.

Antes de analizar el número de picos plasmáticos de meclofenamato hay que señalar que dentro de la prueba de administración oral de meclofenamato sódico y pretratamiento con suero fisiológico, las ovejas 5 y 6, que previamente habían sido separadas del resto por demostrar cierre de gotera reticular, también han presentado un patrón de picos plasmáticos diferentes al del resto de los individuos de la prueba. Por tanto, está doblemente justificado el que estas ovejas hayan sido tratadas de forma separada.

La explicación de este cierre podría ser el estímulo del reflejo buco-faríngeo como efecto del sodio del fármaco, como apuntaron AITKEN y SANFORD (1975). Esto explicaría que en ningún individuo de la prueba con administración de ácido meclofenámico se haya producido este efecto. Sin embargo, no justificaría el comportamiento del resto de las ovejas de la prueba.

Otra causa posible del cierre de la gotera en estas dos ovejas sería el reflejo condicionado provocado por alguna circunstancia no controlada en la prueba (presión de salida de la solución desde la pistola, ruido medioambiental, ...) (ORSKOV, 1982). Esta teoría explicaría bien el hecho de que las dos ovejas en cuestión se sometieran a esta prueba el mismo día bajo condiciones similares, que podrían variar de las del resto de los individuos.

Los niveles de meclofenamato en plasma en todas las pruebas se mantenían sobre los 2 $\mu\text{g/ml}$ al menos hasta las 6 h. En los animales en los que se demostró que se cerraba la gotera reticular, las concentraciones disminuían por debajo de este límite de forma más temprana que en los individuos en los que la gotera permanecía abierta. También se observó que la prueba de administración de ácido meclofenámico presentaba niveles plasmáticos mantenidos durante más tiempo que la prueba homóloga con la sal sódica. En algunas ovejas, a las 48 h todavía se detectaban concentraciones de fármaco superiores a 0,18 $\mu\text{g/ml}$ (límite de detección).

Estos hechos denotan que la vía oral, en cualquiera de las formas de administración probadas es capaz de mantener niveles plasmáticos terapéuticos durante al menos 6 h después de su administración. Por ello, esta vía sería, en general, más aconsejable que la vía endovenosa en el tratamiento de procesos anafilácticos agudos en rumiantes.

De los resultados obtenidos se puede decir que la disposición de niveles plasmáticos de meclofenamato en las pruebas de administración oral presentan dos patrones bien diferenciados: uno, que aparece en los individuos en los que no se ha detectado cierre de gotera reticular, independientemente de la prueba que se ha realizado con ellos y otro, en las ovejas que presentaban cierre de gotera.

El primero se caracteriza por la aparición de un solo pico de concentración máxima durante las dos horas y media posteriores a la administración. El segundo patrón presenta además del máximo del primer modelo, otro pico anterior, de magnitud variable en este mismo periodo de tiempo. Para facilitar su identificación les llamaremos pico 1 y pico 2, por orden cronológico de presentación a pesar de que algunas pruebas carecen de pico 1.

La única elevación que ha aparecido en común en todas las pruebas ha sido el pico 2, cuyo tiempo aproximado (60 min) no ha diferido significativamente entre las pruebas con meclofenamato sódico ($p > 0,05$). Sí había diferencias estadísticamente significativas entre el tiempo de este máximo en la prueba con ácido meclofenámico (127,50 min) y su homóloga con meclofenamato sódico (60,00 min) ($p > 0,05$).

Creemos que ambos máximos se identifican con el mismo proceso de absorción. El hecho de que el pico plasmático tras administración del ácido se presente más tarde y se prolongue durante más tiempo se puede deber a la lentitud con que esta forma química atraviesa las membranas biológicas (como efecto de su pK_a). En especies monogástricas también se ha observado que la forma ácida tarda más tiempo en absorberse y proporciona niveles plasmáticos elevados más persistentes que la sal sódica (FLOREZ, 1992).

En cuanto al tiempo de aparición del segundo pico no se han encontrado diferencias significativas entre las dos pruebas de meclofenamato por vía oral: 60,00 min en el experimento de pretratamiento con suero fisiológico y 75,00 min en el de Lys-Vasopresina. Tampoco parece haber diferencias con el segundo pico de las ovejas 5 y 6 de la prueba con meclofenamato y suero fisiológico (52,50 min). Parece ser que este pico coincidente se debe a la absorción del fármaco desde un mismo compartimento gástrico.

La concentración alcanzada en este segundo pico no varía entre las tres pruebas (6,92; 5,46 y 6,439 $\mu\text{g/ml}$). Sólo las dos ovejas de la prueba con sal y suero fisiológico que cerraban gotera ofrecían valores de concentración plasmática más elevados (11,08 $\mu\text{g/ml}$).

Los dos trabajos que se han realizado con meclofenamatos en rumiantes coinciden en reseñar la aparición de este pico a unos tiempos similares: 30 min en vacas (AITKEN y SANFORD, 1975) y 40 min en ovejas (MARRINER y BOGAN, 1979).

El paso de fármacos a través del epitelio ruminal se produce por un fenómeno de difusión pasiva dependiente del pH, de forma que sólo las sustancias liposolubles no ionizadas atraviesan esta barrera (DOBSON, 1967). Dado el pH sanguíneo (7,2), el pH del contenido ruminal de oveja (5,5-6,5) y el pKa de los meclofenamatos (4 para el ácido y 3,2 para la sal sódica), la relación de las concentraciones de estos compuestos entre plasma y rumen debería ser de 10:1, lo que se traduce en que estas sustancias deben absorberse a través del epitelio ruminal.

Basándose en este proceso de absorción ruminal se podría pensar que el pico plasmático 2 se debe a este fenómeno, ya que, en todas las pruebas, incluidas las

que cursan con cierre de gotera reticular, parte de la solución con fármaco se dirige a rumen. Sin embargo, no parece que los niveles plasmáticos de estos picos corroboren esta teoría; son muy homogéneos, salvo en las ovejas en las que el cierre de gotera ha sido más evidente, que son más altos. Sería lógico esperar que en estos individuos la cantidad de fármaco que se dirige a rumen sea más pequeña.

Además, en los experimentos llevados a cabo con administración intrarruminal mediante cánula ruminal de meclofenamato sódico, tanto en ovejas como en vacas, nunca ha aparecido ningún pico plasmático antes de las 5 h post-administración, por lo que se piensa que la absorción en rumen debe ser muy lenta y queda solapada por la absorción en otras zonas del aparato digestivo (MARRINER y BOGAN, 1979; AITKEN y SANFORD, 1975). Sin embargo, cuando la administración intrarruminal se ha efectuado mediante sonda naso-gástrica, los máximos de concentración plasmática aparecían a 1 y 2,5 h post-administración (COOKE y NICHOLSON, 1981).

Estas diferencias pueden estar relacionadas con el lugar en que se deposita el fármaco: mediante cánula ruminal, el meclofenamato sódico se depositaba en el saco dorsal del rumen mientras, con el sondaje, no se puede determinar exactamente si el fármaco se ha quedado en capas superficiales del contenido ruminal o en los estratos inferiores, de tránsito más lento.

Así, el pH del abomaso de las ovejas (3) crea un medio más propicio que el de reticulorumen para la absorción de los meclofenamatos. Por ello, en las dos referencias encontradas los autores postulan que este pico es consecuencia del cierre de la gotera reticular y absorción del fármaco en abomaso e intestino delgado. Bien sea por efecto de la solución en sí, independientemente de la composición química, bien por efecto del ión sodio sobre el reflejo de cierre de gotera.

Nosotros no podemos corroborar esta hipótesis con los resultados que hemos obtenido ya que el máximo que obtenemos se presenta en individuos en los que no existe ninguna evidencia de cierre.

Una explicación que nos parece más acertada es la que apoya la absorción en abomaso pero no como consecuencia de la contracción de la gotera reticular. Un volumen de solución líquida (sin elementos sólidos en suspensión) que se administra de forma rápida a un rumiante puede dar lugar a un estrato independiente, dentro del contenido ruminal. Parte de este estrato, por su fluidez y por la baja densidad de sus partículas, progresa de forma rápida hacia los siguientes preestómagos. El tiempo que dicho estrato superior tarda en un óvulo en alcanzar el abomaso es aproximadamente de 1 h. Este tiempo coincide con el tiempo de presentación del pico 2 de meclofenamatos tras administración oral de los mismos. Tiene importancia también el volumen de administración (100-150 ml en los trabajos previos y 30 ml en el nuestro), ya que algunos autores indican que elevados volúmenes de solución administrados oralmente pueden provocar el cierre de la gotera esofágica (LANUSSE y col., 1993).

En las administraciones intrarruminales es más difícil conseguir que se forme este nuevo estrato ya que, por efecto de la manipulación, el volumen de solución administrado posiblemente se mezcle con todo el contenido ruminal y tenga que sufrir los procesos fisiológicos de estratificación, regurgitación, etc... antes de conducirse hacia abomaso. Estos procesos necesitan un tiempo aproximado en ovejas de 6 -10 h (FAICHNEY, 1984).

Además, el fármaco que entre en contacto con el material sólido del rumen puede unirse a él, de la misma forma que se ha descrito previamente en équidos (LEES y col., 1988 a). Esta misma teoría se confirma al comprobar que las

concentraciones plasmáticas de meclofenamatos en équidos, tras administración oral, aumentan considerablemente si la administración está precedida de un día de ayuno. Este fenómeno se acompaña de un retraso en la aparición de los máximos, debido a la disminución de la motilidad. Todo ello repercute significativamente en la biodisponibilidad del fármaco (SULLIVAN y SNOW, 1982).

También la composición de la dieta puede influir en el comportamiento cinético de los fármacos, como se ha comprobado en ovejas con gentamicina. Las dietas ricas en proteínas disminuían los niveles plasmáticos del fármaco y hacían disminuir el área bajo la curva de concentraciones 1,7 veces por debajo del valor conseguido con dietas pobres en proteínas (OUKESSOU y TOUTAIN, 1992).

Otro factor que apoya esta teoría de absorción en abomaso es la presencia de un primer pico plasmático de meclofenamatos sólo en los individuos que presentaban evidencia del cierre de gotera. Esto nos hace sospechar que este máximo es debido a la contracción de esta estructura.

En primer lugar, el tiempo de aparición de los picos plasmáticos se corresponde más con un paso directo a abomaso y una rápida absorción. En la prueba con meclofenamato sódico y pretratamiento de Lys-Vasopresina el tiempo es de 12,00 min y en las dos ovejas que cierran gotera de la prueba con meclofenamato sódico y suero fisiológico, 15,00 min.

AITKEN y SANFORD (1975) también mencionan la aparición de este pico a los 5 min en la discusión de sus resultados tras administración oral de meclofenamato sódico en vacas. No aportan datos sobre la magnitud de las concentraciones de estos picos ni explican su presencia.

Resulta muy evidente la diferencia entre las medias de concentración máxima de este pico (3,30 $\mu\text{g/ml}$) para las ovejas tratadas con Lys-Vasopresina y 24,01 $\mu\text{g/ml}$ para las tratadas con suero.

La única diferencia que hemos encontrado entre las dos pruebas que pueda causar esta variación tan notable de concentración es el instante de producción del cierre. En los individuos en los que se ha administrado Lys-vasopresina endovenosa como pretratamiento, el cierre de la gotera es consecuencia de esta administración. A pesar de que el tratamiento oral con meclofenamato sódico se ha realizado en el momento central del periodo probable de contracción de la gotera reticular (10 min después de la administración de Lys-Vasopresina), no podemos asegurar una sincronización perfecta entre el cierre de la estructura y la administración del fármaco por vía oral. Sin embargo, en los individuos que se pretrataron endovenosamente con suero fisiológico, la contracción de la gotera esofágica ha de ser consecuencia directa de la propia administración del fármaco. En este caso la sincronización de los dos hechos es perfecta.

Hay que señalar también que la contracción de la gotera reticular no es un fenómeno que se rige por la ley del todo o nada, principalmente en lo que se refiere a su capacidad para conducir la ingesta a abomaso. Esto quiere decir que la gotera puede contraerse y cerrarse total o parcialmente, conduciendo todo el volumen ingerido o sólo un porcentaje del mismo a abomaso y el resto a reticulorrumen o a omaso (McEWAN y oakley, 1978). La sincronización del cierre de la gotera con la administración del fármaco puede tener relación estrecha con el porcentaje de solución que se dirija a cada compartimento gástrico.

Algunos autores han pretendido comparar los niveles plasmáticos obtenidos tras administración oral de meclofenamatos a rumiantes sin destetar con los

obtenidos e rumiantes adultos en los que se ha cerrado la gotera (MARRINER y BOGAN, 1979). Es cierto que la aparición del primer pico en ambos casos es muy significativo, ya que en ambos casos el fármaco se dirige directamente a abomaso, pero los animales lactantes no presentan ningún otro pico de absorción posterior a éste.

El aparato digestivo de estos animales poseen unas características anatómo-fisiológicas que no hacen posible la extrapolación de datos a animales adultos que cierran la gotera: relación de volúmenes de compartimentos gástricos, ausencia de fermentación en rumen, mayor acidez en abomaso, inmadurez enzimática, ...) (DE BACKER y BOGAERT, 1983).

Además, las transformaciones de otros parámetros fisiológicos, ajenos al aparato digestivo, como el pH de la orina, también contribuyen a este hecho y han imposibilitado la extrapolación de los datos de sulfamidas administradas oralmente a prerrumiantes con adultos que cerraban la gotera (WATSON y col., 1987). Sólo en los casos en los que la administración por vía endovenosa de un fármaco, como es el caso de la eritromicina, se comporten farmacocinéticamente igual en terneros que en adultos, se podrían descartar estos factores extradigestivos (SOBACK y col., 1987).

En algunas de las pruebas se puede ver claramente la existencia de un pico de concentración plasmática adicional, de menor entidad que aparece a las 5-7 h post-administración. Se refleja principalmente en la prueba de pretratamiento con Lys-Vasopresina, en la que aparece a las 7 h, con una media de concentración de 3,82 $\mu\text{g/ml}$. Coinciden en tiempo con los picos reflejados en los trabajos tanto tras administración oral como intrarruminal del fármaco: a las 6 h en vacas (AITKEN y SANFORD, 1975), a las 5 h en ovejas tras administración intrarruminal

(MARRINER y BOGAN, 1979) y a las 2,5-4 h tras administración oral (COOKE y NICHOLSON, 1981).

Este último pico se puede deber tanto a la lenta absorción en el rumen como a la absorción en abomaso de la fracción de fármaco que ha sufrido todos los procesos fisiológicos del reticulorumen o a un compendio de la dos causas.

Para la valoración exacta de la importancia y significado de este tercer pico sería interesante realizar pruebas de metabolismo ruminal de los meclofenamatos. Estos experimentos servirían para conocer en qué medida el fármaco se transforma o/y destruye durante su permanencia en este reservorio. Por ello, se ha puesto a punto la extracción de estos productos a partir de muestras de contenido ruminal, como paso inicial de futuros trabajos.

Dado que se ha comprobado que los meclofenamatos realizan circuitos enterohepáticos en perros y monos (GLAZKO, 1966), habría que comprobar si este hecho se produce también en rumiantes. Si el proceso tiene la entidad suficiente, puede ser responsable de la aparición de picos plasmáticos tardíos.

V.2.3.- Biodisponibilidad.

Dado que el aclaramiento no presentaba diferencias significativas entre ninguna de las pruebas realizadas, se han podido calcular tanto las biodisponibilidades sistémicas absolutas como relativas de los meclofenamatos en las distintas pruebas (BAGGOT, 1992).

Las biodisponibilidades calculadas en las pruebas con meclofenamato sódico oscilaban entre 45,80% y 55,39%. En contra de lo esperado, tratándose de rumiantes adultos y siendo el meclofenamato sódico susceptible de metabolización en rumen, estos valores no son muy bajos. La biodisponibilidad de meclofenamato sódico por vía oral (20 mg/kg) en équidos pura sangre es del 64%; es una diferencia muy pequeña entre especies, sobre todo siendo el caballo un animal monogástrico y en el que el uso terapéutico de los meclofenamatos está muy extendido (SULLIVAN y SNOW, 1982).

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las biodisponibilidades de las pruebas con meclofenamato sódico administrado oralmente, lo que quiere decir que el cierre de la gotera reticular, ya sea por pretratamiento con Lys-Vasopresina o por acción directa de la administración del fármaco, no modifica la biodisponibilidad de la sal administrada por vía oral.

Estos datos no se comportan igual que los obtenidos por OUKESSOU y TOUTAIN (1992) con ampicilina en ovejas. La administración a ovejas adultas por vía oral de este antibiótico ofrecía una biodisponibilidad muy baja, que aumentaba considerablemente si se conseguía el cierre de la gotera mediante supresión de agua durante los dos días previos al tratamiento.

Sin embargo, sí que se detectaron diferencias significativas entre las biodisponibilidades de las distintas pruebas con meclofenamato sódico frente a la administración oral de ácido meclofenámico. En este último caso, la biodisponibilidad era mayor (65,10%) que en los anteriores.

No obstante, aunque el ácido ofrece mayor biodisponibilidad que la sal al ser administrado vía oral, su magnitud no es comparable con la obtenida en la especie humana o en algunos animales monogástricos, en los que supera el 85 % (SERRANO y SERRANO, 1993; BOOTH, 1982; FLOREZ, 1992).

Los datos de biodisponibilidad, observados aisladamente, pueden dirigir la terapéutica hacia el uso del ácido frente al meclofenamato sódico en rumiantes. El estudio del conjunto de resultados nos ofrece las ventajas de la sal, en cuanto a niveles plasmáticos rápidos y elevados, cuando se acompaña del cierre de la gotera reticular.

Por ello, sería más representativo hablar del término bioequivalencia, que depende no sólo del área bajo curva de concentraciones plasmáticas y de la dosis utilizada sino también de los tiempos y concentraciones máximas obtenidos en plasma. Esta sugerencia ha sido hecha por algunos autores especialmente cuando se trabaja en rumiantes por vía oral (SORACI y col., 1991).

Dado que la aplicación terapéutica de los meclofenamatos en rumiantes se centra en el tratamiento de procesos anafilácticos, se requieren niveles plasmáticos rápidos y elevados como terapia de choque y después, niveles mantenidos. Hasta el momento, para conseguir este comportamiento se ha aconsejado la administración endovenosa seguida de la administración intrarruminal (AITKEN y SANFORD, 1975) o la administración intramuscular seguida de otra oral (MARRINER y

BOGAN, 1979).

Con una sola administración oral de meclofenamato sódico precedida de un pretratamiento con Lys-Vasopresina también se han logrado conseguir los niveles plasmáticos necesarios ($>2\mu\text{g/ml}$) para controlar el proceso anafiláctico durante 12 h (AITKEN y col., 1975). Si se precisan concentraciones plasmáticas más prolongadas, parece ser la administración de dosis de mantenimiento de ácido meclofenámico el modo más adecuado de conseguirlas, atendiendo a los resultados obtenidos.

VI.-CONCLUSIONES

VI.- CONCLUSIONES

- 1.- El método de cierre de la gotera reticular mediante administración endovenosa de Lys-vasopresina (0,3 UI/kg) y su comprobación mediante controles de glucemia tras administración oral de glucosa (0,625 g/kg) es válido en ovejas.
- 2.- Se puede provocar la contracción de esta estructura mediante el método de cierre de gotera reticular descrito, aunque no se pueden prever ni prevenir los cierres espontáneos del surco en ovejas adultas.
- 3.- Tras administración endovenosa de meclofenamato sódico (2,2 mg/kg) se obtienen los siguientes valores de $\alpha = 10,00 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$, $\beta = 1,32 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$; $A = 30,29 \text{ } \mu\text{g/ml}$ y $B = 1,62 \text{ } \mu\text{g/ml}$.
- 4.- Las curvas de concentración plasmática de meclofenamatos frente al tiempo tras administración oral de meclofenamato sódico (20 mg/kg) presentaban diferente número de picos de absorción durante las 3 primeras horas según se encontrara abierta (1 C_{max}) o cerrada (2 C_{max}) la gotera reticular.
- 5.- El cierre de la gotera reticular en ovejas adultas provoca la aparición de un máximo de concentración plasmática de meclofenamatos tras administración oral (20 mg/kg) que aparece a los 12-15 minutos post-administración y cuya magnitud no era consecuencia directa del estado de la gotera pero sí dependía de la causa del cierre de esta estructura (24,01 $\mu\text{g/ml}$, cierre por meclofenamato sódico oral; 3,30 $\mu\text{g/ml}$, cierre por Lys-vasopresina endovenosa).

- 6.- Las concentraciones máximas que aparecían después de los 30 min post-administración se debían al transcurso, más o menos rápido, del fármaco a través de los proventrículos de los óvidos ($t_{\max}=60$ min con meclofenamato sódico y $t_{\max}=127$ min con ácido meclofenámico).
- 7.- La biodisponibilidad de los meclofenamatos administrados por vía oral (20 mg/kg) no difiere como consecuencia del estado de apertura o cierre de la gotera reticular pero sí se ha encontrado un aumento de la misma tras administración de la forma ácida frente a la forma salina.

VII.- RESUMEN

VII.- RESUMEN

Se ha realizado un estudio para valorar las variaciones de la biodisponibilidad de los meclofenamatos en ovejas adultas tras administración oral, debidas a la forma de administración y al cierre de la gotera reticular.

Las biodisponibilidades se calcularon en función de las concentraciones plasmáticas de meclofenamatos, determinadas mediante una técnica específica de cromatografía líquida.

Por vía endovenosa (2,2 mg/kg) se obtuvieron resultados semejantes a los recogidos en la revisión bibliográfica. Presentaba dos fases bien definidas, una de distribución ($\alpha = 10,00 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$) y otra de eliminación ($\beta = 1,32 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$).

Para poder controlar el estado de apertura o cierre de la gotera reticular durante las pruebas de administración oral se ha puesto a punto en oveja una técnica de cierre con Lys-Vasopresina combinada con comprobación del mismo mediante un test de glucemia.

Las pruebas por vía oral consistieron en: a) Administración de meclofenamato sódico por vía oral (20 mg/kg) sin provocar el cierre de la gotera reticular. b) Idéntica a la anterior pero forzando el cierre de la gotera esofágica. c) Administración de ácido meclofenámico por vía oral (20 mg/kg) sin provocar la contracción de la gotera.

Los patrones de las concentraciones plasmáticas variaban entre las distintas pruebas e incluso dentro de ellas, dependiendo de la presencia o no de cierre de la gotera esofágica. En los individuos y pruebas en los que no se producía la

contracción de esta estructura se observaba un solo pico de concentración plasmática durante las 3 h posteriores a la administración del fármaco. El tiempo máximo de esta elevación variaba de 60,00 min con meclofenamato sódico a 127,50 min con ácido meclofenámico.

En los individuos que cerraban la gotera reticular durante la prueba, además se observaba otro pico entre los 12,00 y los 15,00 min. Probablemente, este máximo se debe a la absorción en abomaso de la fracción del fármaco que se ha dirigido directamente a esta cavidad vía gotera reticular. La C_{\max} media de este pico varía considerablemente, de 3,30 a 24,01 $\mu\text{g/ml}$, dependiendo de si el cierre de la gotera es producido por el pretratamiento con Lys-Vasopresina o por la administración oral del propio fármaco, respectivamente.

Los valores medios de la biodisponibilidad del meclofenamato sódico por vía oral no presentó diferencias significativas entre las pruebas con (48,62 %) y sin cierre (50,59 %) de gotera reticular. Sí se observó menor biodisponibilidad en las pruebas de administración de meclofenamato sódico por vía oral, con cualquiera de los protocolos, que con la administración oral de ácido meclofenámico (45,80 %) ($p < 0,01$).

SUMMARY

A study about variations of the bioavailability of the meclofenamates by oral route in adult sheep has been performed.

Plasma samples were analysed by a specific liquid chromatographic technique. Plasma concentrations were used to calculate the bioavailabilities.

Following intravenous injection of sodium meclofenamate (2.2 mg/kg), the pharmacokinetics were agree with previous data. It showed two phases: distribution phase ($\alpha = 10.00 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$) and elimination phase ($\beta = 1.32 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$).

A technique for closing the reticular groove in sheep Lys-Vasopresine (e.v.) has been developed. A verification of the closure of the groove was made too.

Three trials of oral administration were made: a) Oral administration of sodium meclofenamate (20 mg/kg) without closure of the reticular groove. b) Equal to a, but with closure of the reticular groove. c) Oral administration of meclofenamic acid (20 mg/kg) without closure of the groove.

The plasma concentration pattern varied with proves and with sheep in some trials. When reticular groove was opened a single peak of plasma concentration was showed for 3 h after administration. The t_{max} values were 60.00 min for sodium meclofenamate and 127.50 min for meclofenamic acid.

When reticular groove was closed, other concentration peak was observed at 12-15 min. It probably may due to the absorption of meclofenamates from the abomasum, when drug directly pass throught the reticular groove from the

oesophagus to the abomasum. The C_{\max} varied depending on the cause of the reticular groove closure. When it was due to the Lys-Vasopresine (e.v.) administration, C_{\max} was $3.30 \mu\text{g/ml}$ and when it was due to sodium meclofenamate oral administration, C_{\max} was $24.01 \mu\text{g/ml}$.

The bioavailability of the sodium meclofenamate following, oral administration, when reticular groove was open (48.62 %) did not show differences from the bioavailability when the groove was closed (50.59 %). However, the meclofenamic acid following oral administration showed larger bioavailability (45,80 %) than sodium meclofenamate ($p < 0.01$).

VIII.- BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

ABE, M.; IRIKI, T.; SHIBUI, H.; KONDOH, K. (1978). Comparative nutrition of calves receiving a concentrate diet via rumen or via esophageal groove. **JPN. J. Zootech. Sci.** 49 (12) 889-897.

ABE, M.; IRIKI, T.; KONDOH, K.; SHIBUI, H. (1979). Effects of nipple or bucket feeding of milk substitute on rumen by pass and on rate of passage in calves. **Br. J. Nutr.** 41 (1) 175-181.

ADAMS, G.D.; BUSH, L.J.; HORNER, J.L. (1985). Two methods for administering colostrum to newborn calves. **J. Dairy Sci.** 68 773-775.

AITKEN, M.M.; SANFORD, J. (1975a). Plasma levels following administration of sodium meclofenamate by various routes. **Res. Vet. Sci.** 19 241-244.

AITKEN, M.M.; SANFORD, J. (1975b). Effects of prostaglandins in calves. **Br. J. Pharmacol.** 54 (2) 266P-267P.

AITKEN, M.M.; SANFORD, M.; EVANS, D.P. (1975). Prophylaxis and treatment of experimental anaphylaxis in cattle by sodium meclofenamate. **Res. Vet. Sci.** 18 41-48.

ALI, B.H.; ELSHEIKH, H.A.; McKELLAR, Q.A. (1990). Pharmacokinetics of niclofolan in desert sheep. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 13 217-219.

ANDERSON, N. (1979). Reticular groove activity and anthelmintic efficiency of

fenbendazole. **Victorian Vet. Proc.** 37 42.

ASARI, M.; FUKAYA, K.; KANO, Y. (1986). Distribution of the muscle coat at the omasoabomasal junction and its vicinity in cattle. **Vet. Res. Commun.** 10 (1) 37-43.

BAGGOT, J.D. (1992). Bioavailability and bioequivalence of veterinary drug dosage forms, with particular reference to horses: an overview. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 15 160-173.

BASELT, R.C. (1987). Mefenamic acid. In : Analytical procedures for therapeutic drug monitoring and emergency toxicology (2nd Ed.). PSG PUBLISHING COMPANY, INC Littleton. pp 161-163.

BEGHELLI, V.; CECCARELLI, P.; DEBENEDETTI, A.; LUCARONI, A.; OLIVIERI, O. (1975). Distribuzione delle colinesterasi e delle monoaminossidasi in vari distretti del reticolo-rumine di agnelli. **Atti. Soc. Ital. Sci. Vet.** 28 377-383.

BERGMAN, H.D.; DUKES, H.H. (1926). An experimental study of the mechanism of regurgitation in rumination. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 69 600-612.

BLUNT, M.H. (1975) The blood of sheep: composition and function. Wellington. New Zealand.

BOGAN, J.; BENOIT, E.; DELATOUR, P. (1987). Pharmacokinetics of oxfendazole in goats: a comparison with sheep. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 10 305-309.

BOGAN, J.A.; MARRINER, S.E. (1987). The rumen as a pharmacokinetic compartment. En: OOMS, L.A.A.; DEGRYSE, A.D.; VAN MIERT, A.S.J.P.A.M. Physiological and pharmacological aspects of the reticulo-rumen. MARTINUS NIJHOFF PUBLISHERS. pp. 253-270.

BOOTH, N.H. (1982). Nonnarcotic analgesics. In: BOOTH, N.H.; McDONALD, L.E. Veterinary pharmacology and therapeutics (5^a ed.). THE IOWA STATE UNIVERSITY PRESS/AMES. Iowa. pp. 309-310.

BRADLEY, B.D.; ALLEN, E.H.; SHOWALTER, D.H.; COLAIANNE, J.J. (1982). Comparative pharmacokinetics of chlortetracycline in milk-fed versus conventionally fed calves. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 5 2.

BRANDER, G.C.; PUGH, D.M.; BYWATER, R.J. (1982). The hormones V: mediators of allergy, anaphylaxis, inflammation, pain and shock. En: Veterinary applied pharmacology and therapeutics (4^a Ed.): BAILLIERE TINDALL. London. pp.230.

BREUKINK, H.J.; WINSING, T.; VAN WEEREN-KEVERLING BUISMAN, A.; VAN BRUINESSEN-KAPSENBERG, E.G.; DE VISSER, N.A. (1988). Consequences of failure of the reticular groove reflex in veal calves fed milk replacer. **Vet. Q.** 10 (2) 126-135.

BRIKAS, P. (1992). GABA receptor-mediated modification of reticulo-ruminal myoelectrical activity in sheep. **J. Vet. Med. A.** 39 161-167.

BRITISH PHARMACOPOEIA (VETERINARY) 1985. Chairman of the Veterinary Medicine Committee: A.O. Betts. London, U.K.

BRUGERE, H.; BRUGERE-PICOUX, J.; LE BARS, H. (1987a). Oesophageal groove and transit to the gastric reservoirs: practical consequences. **Bull. Mens. Soc. Vet. Pra. France.** 71 (4) 197-235.

BRUGERE, H.; MIKHAIL, M.; LE BARS, H. (1987b). Effet de la vasopressine sur le fermeture de la gouttière oesophagienne de la chèvre. **Bull. Acad. Vet. de France.** 60 (1) 63-68.

BULGIN, M.S.; LANE, V.M.; ARCHER, T.E.; BAGGOT, J.D.; CRAIGMILL, A.L. (1991). Pharmacokinetics, safety and tissue residues of sustained release sulfamethazine in sheep. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 14 36-45.

BURKA, J.F.; EYRE, P. (1974). A study of prostaglandins and prostaglandin antagonists in relation to anaphylaxis in calves. **Can. J. Physiol. Pharmacol.** 52 942-951.

BURKA, J.F.; EYRE, P. (1977 a). A pharmacological study of SRS-A on the bovine cutaneous vasculature. **Can. J. Physiol. Pharmacol.** 55 904-908.

BURKA, J.F.; EYRE, P. (1977 b). Effects of bovine SRS-A (SRS-A_{bov}) on bovine respiratory tract and lung vasculature in vitro. **Eur. J. Pharmacol.** 44 169-177.

BURKA, J.F.; SCARNELL, J. (1978). Anaphylactoid reactions to mellavax in calves. **Vet. Rec.** 102 483-484.

BUSH, ; NICHOLSON, (1986). The effects of weaning schedule duration of milk feeding and fish meal on calf performance. **Can. J. Anim. Sci.** 66 691-698.

CHAN, W.Y. (1983). Prostaglandins and nonsteroidal antiinflammatory drugs in dismenorrhea. **Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.** 23 131-149.

CHAPMAN, H.W. (1986). Abomasal intubation of young calves. **Can. J. Vet. Res.** 50 (2) 291-292.

CHAPMAN, H.W.; BUTLER, D.G.; NEWELL, M. (1986). The route of liquids administered to calves by esophageal feeder. **Can. J. Vet. Res.** 50 (1) 84-87.

CHURCH, D.C.(1974). Fisiología digestiva. En: CHURCH, D.C. Fisiología digestiva y nutrición de los rumiantes. ACRIBIA, S.A. (Zaragoza).

CLEEK, J.L.; PHILLIPS, R.W. (1981). Evaluation of a commercial preparation for oral therapy of diarrhea in neonatal calves: administration by suckling versus intubation. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 178 977-981.

COLLIER, H.O.J. (1966). Fenamates as antagonists of bronchoconstriction and nociception induced by bradykinin and other substances. **Annals of Physical Medicine.** Suppl. 50-54.

COMLINE, R.S.; TITCHEN, D.A. (1951). Digestive Physiology and Nutrition of the ruminant. Proceedings of the University of Nottingham seventh Easter School in Agricultural.

COMLINE, R.S. ; TITCHEN, D.A. (1962). Control nervioso del estómago del rumiante. En: LEWIS, D. Fisiología digestiva y nutrición de los rumiantes. ACRIBIA, S.A. (Zaragoza).

CONNER, G.H.; RILEY, W.F.; BECK, C.C.; COPPOCK, R.W. (1974). Arquel (CI-583), a new non-steroidal, anti-inflammatory drug for horses. **Proceedings of the nineteenth annual convention of the American Association of Equine Practitioners, 1973.** 81-90.

COOKE, R.G.; KNIFTON, A. (1980). Effect of oral meclofenamic acid on uterine motility and reactivity to oxytocin in goats. **Res. Vet. Sci.** 29 251-254.

COOKE, R.G.; KNIFTON, A. (1981). Lack of effect of multiple oral doses of meclofenamic acid on parturition in goats. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 4 63-66.

COOKE, R.G.; NICHOLSON, T. (1981). The reticular groove and drug absorption. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 4 311-313.

COOPER, B.S. (1982). Anthelmintic action against gastrointestinal nematodes in sheep. **Proceedings of the 12th seminar of the sheep and beef cattle Society of the New Zealand Veterinary Association.** 401-413.

CUMMINS, L.J.; CALLINAN, A.P.L. (1979). Efficacies of albendazole and fenbendazole against cattle nematodes in western victoria. **Aust. Vet. J.** 55 348-349.

CZEPA, A.; STIGLER, R. (1930). The rontgen-ray picture of the ruminant's abdomen. **Vet. Rec.** 22 (X) 483-484.

DAVIS, L.E. (1980). The comparative pharmacology of chloramphenicol. **J. Am. Vet. Med. A.** 176 (9) 923-924.

DAWOOD, M.Y. (1988). Nonsteroidal antiinflammatory drugs and changing

attitudes toward dismenorrhea. **Am. J. Med.** 80 23-28.

DE BACKER, P.; BOGAERT, M.G. (1983). Drug bioavailability in the developing ruminant. En: RUCKEBUSCH, Y.; TOUTAIN, P.-L.; KORITZ, G.D. *Veterinary Pharmacology and Toxicology*. MTP PRESS LIMITED. (Lancaster).

DE BACKER, P.; BRAECKMAN, R.; BELPAIRE, F.; DEBACKERE, M. (1980). Bioavailability and pharmacokinetics of phenylbutazone in the cow. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 3 29-33.

DE BACKER, P.; DEBACKERE, M. (1979). Comparative study of chloramphenicol absorption in calves after oral, intra-ruminal and intra-abomasal administration. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 2 195-202.

DE BACKER, P.; DEBACKERE, M.; BOGAERT, M.G.; BELPAIRE, F.B. (1984). Oral absorption of drugs in the developing ruminant. **Vlaams Diergeneeskd. Tijdschr.** 53 (6) 509-518.

DE BACKER, P.; DEBACKERE, M.; DE CORTE-BAETEN, K. (1978). Plasma levels of chloramphenicol after oral administration in calves during the first weeks of life. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 1 135-140.

DE CORTE-BAETEN, K.; DEBACKERE, M. (1978). The non-absorption of chloramphenicol after oral administration in adult ruminants: a tentative explanation from "in vitro" studies. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 1 129-134.

DE VISSER, N.A.; BREUKINK, H.J. (1984). Ruminal drinkers and clay defecators. **Tijdschr. Diergeneeskd.** 109 (20) 800-804.

DE VUYST, A. (1974). El reflejo de cierre de la gotera esofágica. **Zoothecnia**. 24 241-242.

DELLMAN, H.-D. (1976). Textbook of veterinary histology. LEA & FEBIGER. Filadelfia. PP. 237-240.

DENAC, M.; KUMIN, G.; SCHARRER, E. (1991). Effect of noradrenaline on smooth muscle strips from the reticular groove of adult cattle. **J. Vet. Med. A**. 38 383-388.

DENAC, M.; MARTI, J.; SCHARRER, E. (1990). Effect of catecholamines on smooth muscle of the reticular groove of calves. **Schweiz. Arch. fur Tierheilkd**. 132 (9) 491-196.

DIRKSEN, G. (1989). Dysfonctionnement de la gouttière oesophagienne: une complication de la diarrhée néo-natale des veaux. **Revue Méd. Vét.** 140 (8-9) 719.

DIRKSEN, G.; DIRR, L. (1989). Oesophageal groove dysfunction as a complication of neonatal diarrhea in the calf. **Bov. Prac.** 24 (53) 56-60.

DIRR, L.; DIRKSEN, G. (1989). Dysfunction of the oesophageal groove (ruminal drinking) as complication of neonatal diarrhoea in calves. **Tierärzt. Praxis**. 17 (4) 353-358.

DOBSON, A. (1962). In: LEWIS, D. Fisiología digestiva y nutrición de los rumiantes. ACRIBIA, S.A. Zaragoza.

DOBSON, A. (1967). Physiological peculiarities of the ruminant relevant to drug

distribution. **Fed. Pro.** 26 994- .

DUKES, H.H. (1983). Fisiología de los animales domésticos. AGUILAR. (México).

DUNCAN, J.L.; ARMOUR, J.; BAIRDEN, K.; JENNINGS, F.W.; URQUART, G.M. (1977). The activity of fenbendazole against inhibited 4th stage larvae of *Ostertagia ostertagi*. **Vet. Rec.** 101 249.

DUNLOP, R.H. (1983). Ruminant influences on drug action. En: RUCKEBUSCH, Y.; TOUTAIN, P.-L.; KORITZ, G.D. Veterinary Pharmacology and Toxicology. MTP PRESS LIMITED. (Lancaster).

EBERHARDSON, B.O.; OLSSON, G.; APPELGREN, L.-E.; JACOBSSON, S.-O. (1979). Pharmacokinetic studies of phenylbutazone in cattle. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 2 31-37.

EL-HAMAMSY, H.T.; EL-NEWEHHY, T.K.; ABDOU, O.M.; KUBESY, A.A. (1990). Clinical significance of oesophageal groove vasopressin induced-closure II: a new concept in the oral glucose treatment of pregnancy toxemia in ewes. **Vet. Med. J. Giza.** 38 (3) 373-384.

ENCINAS, T.; SAN ANDRE, M.I.; DE LUCAS, J.J.; ROS, J.M. (1989). Registro de la motilidad espontánea "in vitro" del suelo de la gotera reticular en bóvidos. **Rev. Esp. Fisiol.** 45 (4) 367-372.

ERGENE, N.; NICHOLSON, T. (1986). Xylose absorption in adult sheep and associated kinetics. **J. Vet. Med. Ser. A.** 33 (7) 556-560.

EYRE, P. (1976). Preliminary studies of pharmacological antagonism of anaphylaxis in the horse. **Can. J. Comp. Med.** 40 149-152.

FAICHNEY, G.J. (1984). The kinetics of particulate matter in the rumen. En: MILLIGAN, L.P.; GROVUM, W.L.; DOBSON, A. Control of digestion and metabolism in ruminants. ENGLEWOOD CLIFFS (New Jersey). pp. 173-195.

FALEMPIN, M.; MEI, N.; ROUSSEAU, J.P. (1978). Vagal mechano receptors of the inferior thoracic esophagus the lower esophageal sphincter and the stomach in the sheep. **Pfluegers Arch. Eur. J. Physiol.** 373 (1) 25-30.

FITZPATRICK, R.J. (1977). Changes in cervical function at parturition. **Ann. Rech. Vét.** 8 (4) 438-449.

FLOREZ, J. (1992). Fármacos analgésicos antitérmicos y antiinflamatorios no esteroideos. Antiartríticos. En: FLOREZ, J.; ARMIJO, J.A.; MEDIAVILLA, A. Farmacología humana 2ª Ed. MASSON-SALVAT. Barcelona.

FLOWER, R.J.; MONCADA, S.; VANE, J.R. (1982). Agentes analgésico-antipiréticos y antiinflamatorios; drogas empleadas en el tratamiento de la gota. En: GOODMAN, ;GILMAN, Las bases farmacológicas de la terapeutica. (6ª Ed.). E. MEDICA PANAMERICANA. Buenos Aires. pp. 699-700.

FRIIS, C. (1991). Disposition kinetics of metronidazole in the cow. **Acta Vet. Scand.** 87 (Suppl.) 155-157.

FRIIS, C.; BJERREGAARD, J.; HOFFMANN, K. (1991). Pharmacokinetics of

bromhexine and its effect on oxytetracycline penetration into bronchial secretions in calves. **Acta Vet. Scand.** 87 (Suppl.) 158-160.

GARWACKI, S.; HORNIK, H.; KARLIK, W.; DABROWSKI, J. (1991). Pharmacokinetics of sulfamerazine in sheep fed ad libitum and fasted. **Acta Vet. Scand.** 87 (Suppl.) 145-146.

GOONERATNE, A.D.; HARTMANN, P.E.; BARKER, I. (1982). Influence of meclofenamic acid on the initiation of parturition and lactation in the sow. **J. Reprod. Fert.** 65 157-162.

GHOSHAL, N.G. (1982). Arterias y corazón de los rumiantes. En: SISSON, S.; GROSSMAN, J.D. Anatomía de los animales domésticos. Tomo 1. SALVAT. Barcelona.

GUARD, C.L.; SCHWARK, W.S.; FIEDMAN, D.S.; BLACKSHEAR, P.; HALUSKA, M. (1986). Age-related alterations in trimethoprim-sulfadiazine disposition following oral or parenteral administration in calves. **Can. J. Vet. Res.** 50 342-346.

GUILHERMET, R.; MATHIEU, C.M.; TOULLEC, R. (1974). Observations on the closure of the esophageal groove in the calf. **Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys.** 13 (4) 715-718.

GUILHERMET, R.; MATHIEU, C.-M.; TOULLEC, R. (1975). Transit des aliments liquides au niveau de la gouttière oesophagienne chez le veau preruminant et ruminant. **Ann. Zootech. (Paris)**, 24 (I) 69-79.

HABEL, R.E. (1982). Sistema digestivo de los rumiantes. En: SISSON, S.; GROSSMAN, J.D. Anatomía de los animales domésticos. Tomo 1. SALVAT. Barcelona. pp. 982-1003.

HAEFELFINGER, P. (1981). Limits of the internal standard technique in chromatography. *J. Chromatog.* 218 73-81.

HARDING, R.; LEEK, B.F. (1971). The locations and activities of medullary neurones associated with ruminant forestomach motility. *J. Physiol.* 219 587-610.

HEDDE, R.D.; WARD, G.M. (1973). Strontium as an indicator of rumen by-pass efficacy. *J. Dairy Sci.* 56 1567-1569.

HEGLAND, R.B.; LAMBERT, M.R.; JACOBSON, B.L.; PAYNE, L.C. (1957). Effecto of dietary and managemental factors on reflex closure of the esophageal groove in the dairy calf. *J. Dairy Sci.* 40 1107-1113.

HENNESSY, D.R.; ALI, D.N.; STEEL, J.W. (1991). The pharmacodynamic relationship of oxfendazole with feed intake in sheep. *Acta Vet. Scand.* 87 (Suppl.) 389-391.

HERD, R.P. (1988). New delivery systems simplify bovine worm control. *Mod. Vet. Pract.* 69 (2) 85-91.

HOGARTH-SCOTT, R.S.; KELLY, J.D.; WHITLOCK, H.V.; THOMPSON, H.G.; JAMES, R.E.; MEARS, F.A. (1976). The anthelmintic efficacy of fenbendazole against thiabendazole-resistant strains of *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* in sheep. *Res. Vet. Sci.* 21 232-237.

HOMEIDA, A.M. (1986). Role of oxytocin during the oestrous cycle of ruminants with particular reference to the goat. **An. Breed. Abs.** 54 (4) 263-268.

HUBER, J.T.; STANDAERT, F.E.; EMERY, R.S. (1982). Rumen bypass of protein through suckling of liquids by lactating heifers. **J. Dairy Sci.** 65 1163-1169.

HUFFMAN, E.M.; CLARK, C.H.; OLSON, J.D.; BALL, L. (1981). Serum chloramphenicol concentrations in preruminant calves: a comparison of two formulations. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 4 225-231.

ILKIW, J.E.; BENTHUYSEN, J.A.; EBLING, W.F.; McNEAL, D. (1991). A comparative study of the pharmacokinetics of thiopental in the rabbit, sheep and dog. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 14 134-140.

JAIN, S.K.; UPPAL, R.P. (1983). Pharmacokinetics of trimethoprim in buffalo calves. **Zbl. Vet. Med. A.** 30 682-687.

JAIN, S.K.; UPPAL, R.P. (1984). Data on the pharmacokinetics of sulphamethoxazole and trimethoprim in buffalo calves. **Abl. Vet. Med. A.** 31 25-30.

JARRETT, W.F.; CAMPO, M.S.; BLAXTER, M.L.; O'NEIL, B.W.; LAIRD, H.M.; MOAR, M.H. (1984). Alimentary fibropapilloma in cattle; a spontaneous tumor, nonpermissive for papillomavirus replication. **J. Natl. Cancer Inst.** 73 (2) 499-504.

JENKINS, W.L.; DAVIS, L.E.; BOULOS, B.M. (1975). Transfer of drugs across the ruminal wall in goats. **Am. J. Vet. Res.** 36 (12) 1771-1776.

JENKINS, W.L.; FRIEDLANDER, L.G. (1983). Oral antibacterial therapy in pre- and postweaning calves. En: RUCKEBUSCH, Y.; TOUTAIN, P.-L.; KORITZ, G.D. *Veterinary Pharmacology and Toxicology*. MTP PRESS LIMITED (Lancaster).

JOHANSSON, I.M.; KALLINGS, P.; HAMMARLUND-UDENAES, M. (1991). Studies of meclofenamic acid and two metabolites in horses-pharmacokinetics and effects on exercise tolerance. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 14 235-242.

KALTENBRONN, J.S.; SCHERRER, R.S.; SHORT, F.W.; JONES, E.M.; BEATTY, H.R.; SAKA, M.M.; WINDER, C.V.; WAS, J.; WILLIAMSON, W.R.N. (1983). Structure-activity relationships in a series of anti-inflammatory N-arylanthranilic acids. *Arzneim.-Forsch.* 33 621-626.

KANO, Y. FUKAYA, K.; ASARI, M.k EGUCHI, Y. (1981). Studies on the development of the fetal and neonatal bovine stomach. *Anat. Histol. Embryol.* 10 (3) 264-274.

KANO, Y.; KAWAGUCHI, N.; ASARI, M.; WAKUI, S. (1988). Morphogenesis of longitudinal folds situated on the floor of the reticular groove. *JPN. J. Vet. Sci.* 50 (3) 821-824.

KAY, R.N.B.; ORSKOV, E.R.; WENHAM, G. (1972). Radiographic studies of the oesophagus and stomach of the suckling lamb and kid. *Proceedings of the Physiological Society*, pp. 2.

KELLY, J.D.; HALL, C.A.; WHITLOCK, H.V.; THOMPSON, H.G.; CAMPBELL, N.J.; MARTIN, I.C.A. (1977). The effect of route of administration

on the anthelmintic efficacy of benzimidazole anthelmintics in sheep infected with strains of *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* resistant or susceptible to thiabendazole. **Res. Vet. Sci.** 22 161-168.

KITAMURA, N.; YAMADA, J.; YAMASHITA, T.; YANAIHARA, N. (1987). Distribution of methionine-enkephalin-Arg6-Gly7-Leu-8-immunoreactive nerves in the forestomach of cattle. **Am. J. Vet. Res.** 48 (11) 1631-1637.

KNOPPERT, N.W.; NIJMEIJER, S.M.; VAN DUIN, C.T.M.; KORSTANJE, C.; VAN GOGH, H.; VAN MIERT, A.S.J.P. A.A.M. (1988). Some pharmacokinetic data of aditoprim and trimethoprim in healthy and tick-borne fever infected dwarf goats. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 11 135-144.

KOLB, E.; GÜRTLER, H.; KETZ, H.-A.; CHRÖDER, L.; SEIDEL, H. (1979). Fisiología Veterinaria. ACRIBIA, S.A. (Zaragoza).

KOPER, S.; MUCHA, M. (1983). A cineradiographic method for recording the function of the oesophageal groove in lambs. **Acta Physiol. Pol.** 34 (5-6) 539-545.

KORITZ, G.D. (1983). Influence of ruminant gastrointestinal physiology on the pharmacokinetics of drugs in dosage forms administered orally. En: RUCKEBUSCH, Y.; TOUTAIN, P.-L.; KORITZ, G.D. Veterinary Pharmacology and Toxicology. MTP PRESS LIMITED (Lancaster).

KOUP, J.R.; TUCKER, E.; THOMAS, D.J.; KINKEL, A.W.; SEDMAN, A.J.; DYER, R.; SHAROKY, M. (1990). A single and multiple dose pharmacokinetic and metabolism study of meclofenamate sodium. **Biopharm. & drug dispos.** 11 1-15.

KRAHMER, R. (1982). Anatomía de los animales domésticos. ACRIBIA, S.A. Zaragoza.

LADAGE, C.A.; KLEINEPIER, J.F.; VAN MIERT, A.S.J.P.A.M. (1989). Some pharmacokinetic data of the liver-fluke anthelmintic nitroclofene in ruminant and pre-ruminant dis. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 12 451-454.

LANUSSE, C.; GASCON, L.; PRICHARD, R. (1991 a). Plasma disposition and compartmental distribution of albendazole metabolites after netobimin administration to cattle. **Acta Vet. Scand.** 87 (Suppl.) 386-389.

LANUSSE, C.E.; GASCON, L.H.; RANJAN, S.; PRICHARD, R.K. (1992 a). Morantel tartrate release from a long-acting intraruminal device in cattle: pharmacokinetics and gastrointestinal distribution. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 15 117-123.

LANUSSE, C.E.; GASCON, L.; PRICHARD, R.K. (1992 b). Methimazole-mediated modulation of netobimin biotransformation in sheep: a pharmacokinetic assessment. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 15 267-274.

LANUSSE, C.E.; GASCON, L.H.; PRICHARD, R.K. (1993). Gastrointestinal distribution of albendazole metabolites following netobimin administration to cattle: relationship with plasma disposition kinetics. **J. vet. Pharmacol. Therap.** 16 38-47.

LANUSSE, C.E.; TRUDEAU, C.; RANJAN, S.; PRICHARD, R.K. (1991 b). Pharmacokinetic profiles of netobimin metabolites after oral administration of zwitterion and trisamine formulations of netobimin to cattle. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 14 101-108.

LATEUR-ROWET, H.J.; BREUKINK, H.J. (1983). The failure of the oesophageal groove reflex when fluids are given with an oesophageal feeder to newborn and young calves. **Vet. Q.** 5 (2) 68-74.

LAVIN, S.; MIRO, J.; ELIAS, M.; MONREAL, L.; VIÑAS, L. (1989). Estabilidad de la glucosa sanguínea de oveja en función del anticoagulante empleado y del tiempo y condiciones de almacenamiento. **Med. Vet.** 6 (5) 293-296.

LAWLOR, M.J.; KEALY, J.K. (1971). Mal adjustment syndrome in the artificial rearing of early weaned lambs. **Vet. Rec.** 88 (10) 260-261.

LAWLOR, M.J.; HOPKINS, S.P.; KEALY, J.K. (1971a). The functioning of the esophageal groove reflex and comparison of the performance of lambs fed individually and in groups. **Br. J. Nutr.** 26 (3) 349-448.

LAWLOR, M.J.; KEALY, J.K.; HOPKINS, S.P. (1971b). The esophageal groove reflex and the performance of individually vs. group fed lambs. **Proc. Nutr. Soc.** 30 (1) 24A-25A.

LEES, P.; AYLIFFE, T.; MAITHO, T.E.; TAYLOR, J.B. (1988a). Pharmacokinetics, metabolism and excretion of phenylbutazone in cattle following intravenous, intramuscular and oral administration. **Res. Vet. Sci.** 44 (1) 57-67.

LEES, P.; TAYLOR, J.B.O.; HIGGINS, A.J.; SEDGWICK, A.D. (1988b). In vitro and in vivo binding of phenylbutazone and related drugs to equine feeds and digesta. **Res. Vet. Sci.** 44 50-56.

LEWIS, G. (1962). Fisiología digestiva y nutrición de los rumiantes. ACRIBIA, S.A. (Zaragoza).

LOHUIS, J.A.C.M.; VAN WERVEN, T.; BRAND, A.; VAN MIERT, A.S.J.P.A.M.; ROHDE, E.; LUDWIG, B.; HEIZMANN, P.; REHM, W.F. (1991). Pharmacodynamics and pharmacokinetics of carprofen, a non-steroidal anti-inflammatory drug, in healthy cows and cows with *Escherichia coli* endotoxin-induced mastitis. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 14 219-229.

LOPEZ, C. (1992). Estudio in vitro del efecto del verapamil en el músculo liso del suelo de la gotera esofágica en ganado vacuno. Tesis de Licenciatura. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid.

LYE, S.J.; SPRAGUE, C.L.; CHALLIS, J.R.G. (1983). Modulation of ovine myometrial activity by estradiol-17 beta. The possible involvement of prostaglandins. **Can. J. Physiol. Pharmacol.** 61 729-735.

MARRINER, S.; BOGAN, J.A. (1979). The influence of the rumen on the absorption of drugs: studies using meclofenamic acid administered by various routes to sheep and cattle. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 2 109-115.

MARRINER, S.; BOGAN, J.A. (1979). Pharmacokinetics of albendazole in sheep. **Am. J. Vet. Res.** 41 (7) 1126-1129.

MARRINER, S.E.; BOGAN, J.A. (1981a). Pharmacokinetics of oxfendazole in sheep. **Am. J. Vet. Res.** 42 (7) 1143-1145.

MARRINER, S.E.; BOGAN, J.A. (1981b). Pharmacokinetics of fenbendazole in sheep. **Am. J. Vet. Res.** 42 (7) 1146-1148.

MARRINER, S.E.; BOGAN, J.A.; VANDAELE, W. (1981). Comparison of the

pharmacokinetics of albendazole and its major metabolites after oral administration of albendazole as a suspension and as a paste formulation to sheep. **Abl. Vet. Med. B.** 28 19-26.

MARRINER, S.E.; McKINNON, E., BOGAN, J.A. (1987). The pharmacokinetics of ivermectin after oral and subcutaneous administration to sheep and horses. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 10 175-179.

MARTIN, K.; ANDERSSON, L.; STRIDSBERG, M.; WIESE, B.; APPELGREN, L.-E. (1984). Plasma concentration, mammary excretion and side-effects of phenylbutazone after repeated oral administration in healthy cows. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 7 131-138.

McEWAN, A.D.; OAKLEY, G.A. (1978). Anthelmintics and closure of the oesophageal groove in cattle. **Vet. Rec.** 102 314-315.

McLEAN, J.R.; GLUCKMAN, M.I. (1983). On the mechanism of the pharmacologic activity of meclofenamate sodium. **Arzneim.-Forsch.** 33 627-630.

MEVIUS, D.J.; BREUKINK, H.J.; VAN MIERT, A.S.J.P.A.M.; KESSELS, B.G.F.; JOBSE, A.S.; SMIT, J.A.H. (1991). Effects of experimentally induced *Pasteurella haemolytica* infection in dairy calves on the pharmacokinetics of flumequine. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 14 174-184.

MICHELL, G.; SCHWARZE, E.; SCHRODER, L. (1980). Embriología. En: MICHELL, G.; SCHWARZE, E.; SCHRODER, L. Compendio de anatomía veterinaria. Tomo VI. ACRIBIA S.A. pp. 171-175.

MIKHAIL, M. (1986). Effect of vasopressine on the reticular groove contraction in adult cattle and its use in the treatment of diarrhoea. Inaugural-dissertation Tierarztliche Hochschule, Hannover. pp. 183.

MIKHAIL, M. (1987). Pratique et applications de la fermeture de la gouttiere oesophagienne chez les bovins adultes. SOCIETE FRANCAISE DE BUIATRIE. Toulouse.

MIKHAIL, M.; BRUGERE, H.; LE BARS, H.; COLVIN, H.W.Jr. (1988). Stimulated esophageal groove closure in adult goats. **Am. J. Vet. Res.** 49 (10) 1713-1715.

MIKHAIL, M.; SCHOLZ, H. (1987). Untersuchungen zur nutzung der schlundrinnenkontraktion in der behandlung innerer erkrankungen des erwachsenen rindes 2: vasopressinkonzentrationen im blut plasma. **Tierarz.-Ums.** 42 (5) 378-382.

MIKHAIL, M.; ZITTLAU, E. (1988). Stimulation of esophageal contraction in the treatment of internal diseases of adult cattle, 5: side-effects of i.v. administered vasopressin on circulatory and blood values. **Tierar.-Ums.** 43 (4) 235-239.

MILLER, J.K.; MOSS, B.R.; HALL, R.F.; GORMAN, G.M. (1969). Factors influencing closure of the bovine esophageal groove. **J. Dairy Sci.** 52 (4) 561.

MITCHELL, M.D.; FLINT, A.P.F. (1978). Use of meclofenamic acid to investigate the role of prostaglandin biosynthesis during induced parturition in sheep. **J. Endocrinol.** 76 101-109.

MITCHELL, E.S.; McKELLAR, Q.A.; BOGAN, J.A. (1990). Effect of

meclofenamic acid on the response of parasite-naïve lambs and adult sheep to *Ostertagia circumcincta*. **Res. Vet. Sci.** 49 166-170.

MOHAMMED, -ALI, N.A.K.; BOGAN, J.A. (1987). The pharmacodynamics of the flukicidal salicylanilides, rafoxanide, closantel and oxyclosanide. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 10 127-133.

MOLINARI, E.; JORQUERA, B. (1988). Periodos del desarrollo intrauterino de los compartimentos gástricos del caprino (*Capra hircus*). **Anat. Histol. Embryol.** 17 121-137.

MORGAN, P.J.K. (1978). The flow paths taken by ground supplements in the stomachs of sheep. **S.-Afr. Tydskr. Veek.** 7 (2) 91-96.

MORMEDE, P.; LEDOUX, J.-M. (1980). Pharmacokinetics of lithium in sheep. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 3 169-176.

MORRISON, A.R.; HABEL, R.E. (1964). A quantitative study of the distribution of vagal nerve endings in the myenteric plexus of the ruminant stomach. **J. Comp. Neurol.** 122 297-309.

MUSTAFA, A.I.; ALI, B.H.; HASSAN, T.; SATTI, A.M. (1985). Furazolidone concentrations in plasma, milk and some tissues of nubian goats. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 8 190-193.

MUTOH, K.; WAKURI, H. (1988). Light and electron microscopy on the glands observed in the reticular groove of the sheep. **JPN. J. Vet. Sci.** 50 (1) 159-167.

NAWAZ, M.; KAHN, F.H. (1991). Bioavailability, elimination kinetics, renal clearance and excretion of ampicillin following intravenous and oral administration in sheep and goats. **Acta Vet. Scan.** 87 (Suppl.) 131-132.

NEWHOOK, J.C.; TITCHEN, D.A. (1970). Radiographic study of the oesophageal groove in lambs. **J. Anat.** 104 405.

NEWHOOK, J.C.; TITCHEN, D.A. (1974). Effects of vagotomy, atropine, hexamethonium and adrenaline on the destination in the stomach of liquids sucked by milk-fed lambs and calves. **J. Physiol.** 237 (2) 415-430.

NICHOLSON, T. (1984). The xylose absorption test in sheep by activation of the reticular groove reflex. **Can. J. Anim. Sci.** 64 (Suppl.). 187-188.

NICHOLSON, T.; BELKHIRI, M. (1991). The inhibition of the reticular groove reflex in sheep by clonidine. **J. Vet. Med. A.** 38 265-270.

NIJMEIJER, S.M.; SAMURIWO, E.; VAN DUIN, C.T.M.; VAN MIERT, A.SJ.P.A.M. (1990). Oral chloramphenicol in dwarf goats: influence of vasopressin on its absorption and effect of diet on its biodegradation in ruminal fluid samples. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 13 408-414.

NOMINA ANATOMICA VETERINARIA.

NOUWS, J.F.M.; VREE, T.B.; AERTS, M.M.L.; DEBEN, M.; DRIESSENS, F. (1987). Some pharmacokinetic data about furaltadone and nitrofurazone administered orally to preruminant calves. **Vet. Q.** 9 (3) 208-214.

NUNES DO PRADO, I.; TOULLEC, R.; MANIS, Y.; GUILLOTEAU, P. (1987). Effects of the administration of milk in the rumen of the pre-ruminant calf on the functioning of the esophageal groove and the composition of rumen fluid. **Reprod. Nutr. Dev.** 27 (1-B) 253-254.

ODEGAARD, S.A.; RASTAD, A. (1987). Pharmacokinetics of sulphaphenazole in cattle. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 10 83-84.

OERTLE, C. (1988). Efecte verschiedener transmitter und neuropeptide auf die glatte muskulatur der pasalterrinne und des labmagenfundus beim kalb. Inaugural-dissertation zur erlangung der doktorwurde der veterinar-medizinischen fakultat der universitat Zurich.

ORSKOV, E.R. (1969). Using the oesophageal groove for feeding protein supplements direct to the abomasum of young growing sheep. **VIII Int. Cong. Nutr. Prog.** 0-10.

ORSKOV, E.R. (1972). Reflex closure of the esophageal groove and its potential application in ruminant nutrition. **S. Afr. J. Anim. Sci.** 2 (2) 169-176.

ORSKOV, E.R. (1973). Efficiency of the early weaned lamb. **World Rev. Anim. Prod.** IX (3) 58-64.

ORSKOV, E.R. (1975). Physiological conditioning in ruminants. **World Anim. Rev.** 16 31-36.

ORSKOV, E.R. (1977). Capacity for digestion and effects of composition of absorbed nutrients on animal metabolism. **J. Anim. Sci.** 46 (3) 600-608.

ORSKOV, E.R. (1990). El rumiante recién nacido. En: Alimentación de los rumiantes. ACRIBIA, S.A. Zaragoza. pp. 6-14.

ORSKOV, E.R.; BENZIE, D. (1969a). Using the oesophageal groove reflex in ruminants as a means of bypassing rumen fermentation with high-quality protein and other nutrients. **Proc. Nutr. Sco.** 28 30A.

ORSKOV, E.R.; BENZIE, D. (1969b). Studies on the esophageal groove reflex in sheep and on the potential use of the groove to prevent the fermentation of food in the rumen. **Brit. J. Nutr.** 23 (2) 415-420.

ORSKOV, E.R.; BENZIE, D.; KAY, R.N.B. (1970a). The effects of feeding procedure on closure of the esophageal groove in young sheep. **Brit. J. Nutr.** 24 (3) 785-795.

ORSKOV, E.R.; FRASER, C. (1972). The effect of feeding protein supplements in liquid or in dry form on nitrogen retention in early weaned lambs. Meeting of the British Society of Animal Production. 281.

ORSKOV, E.R.; FRASER, C.; CORSE, E.L. (1970). The effect of protein utilization of feeding different protein supplements via the rumen or via the abomasum in young growing sheep. **Brit. J. Nutr.** 24 (3) 803-809.

ORSKOV, E.R.; FRASER, C.; PIRIE, R. (1973). The effect of bypassing the rumen with supplements of protein and energy on intake of concentrates by sheep. **Br. J. Nutr.** 30 361-367.

OSMAN, A. H. K.; BERG, R. (1982). The histogenesis of the tunica mucosa of the

stomach of the egyptian water buffalo bos-bubalis 3: histogenesis of the mucosa of the ventricular sulcus esophageal groove. **Aat. Anz.** 151 (4) 375-379.

OUKESSOU, M.; TOUTAIN, P.L. (1992a). Effecto of dietary nitrogen intake on gentamicin disposition in sheep. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 15 516-420.

OUKESSOU, M.; TOUTAIN, P.L. (1992b). Effect of water deprivation on absorption (oral, intramuscular) and disposition of ampicillin in sheep. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 15 421-432.

OWEN, S.G.; ROBERTS, M.S.; FRIESEN, W.T. (1987). Rapid high-performance liquid chromatographic assay for the simultaneous analysis of non-steroidal antiinflammatory drugs in plasma. **J. Chromatography.** 416 293-302.

OWINY, J.R.; FITZPATRICK, R.J.; SPILLER, D.G.; APPLETON, J. (1987). Scanning electron microscopy of the wall of the ovine cervix uteri in relation to tensile strength at parturition. **Res. Vet. Sci.** 43 36-43.

PANCHAMUKHI, B.G.; MUDHOLKAR, D.R.; SRIVASTAVA, H.C. (1975a). Pre-natal development of the buffalo Bubalus-bubalis stomach part 1: organogenesis of the stomach. **Indian J. Anim. Sci.** 45 (9) 638-647.

PANCHAMUKHI, B.G.; MUDHOLKAR, D.R.; SRIVASTAVA, H.C. (1975b). Prenatal development of the buffalo (Bubalus bubalis) stomach 2: later morphogenesis. **Indian J. Anim. Sci.** 45 (9) 648-652.

PANCHAMUKHI, B.F.; MUDHOLKAR, D.R. (1978). A note on cornification in the prenatal forestomachs of the buffalo Bubalus-bubalis. **Indian J. Anim. Sci.** 48

(6) 473-476.

PANCHAMUKHI, B.F.; SRIVASTAVA, H.C. (1982). Histogenesis of the reticular groove of the buffalo (*Bubalus bubalis*) stomach. **Am. J. Vet. Res.** 43 (2) 346-349.

PARAGON, B.; HACHET, T. (1980). Measuring the passage of liquid through the reticular groove of the calf using thermotransducers. **Ann. Rech. Vet.** 11 (4) 333-339.

PASCOE, R.R. (1983). Methods for the treatment of twin pregnancy in the mare. **Equine Vet. J.** 15 40-42.

PASHOV, D.; DROUMEV, D.; KOYCHEV, V.; DIMITROVA, D.; DYAKOV, L.; ZHELYASKOVA, Z.; VULCHANOVA, R.; DASKALOVA, O. (1991). Dosage forma containing sulfadimidine and trimethoprim intended for oral administration in ruminants. **Acta Vet. Scand.** 87 (Suppl.) 147-149.

PASTEIA, E.; CRINGANU, S.T.; CORNILA, N.; DIACONESCU, L. (1975-1976). Cercetari asupra vascularizatiei si inervatiei jgheabului esofagian "sulcus reticuli" la oaie. *Lucrari Stiintifice, I.A.N.B., seria C. XVII-XIX* 23-28.

PASTEIA, E.; POPA, V.V.; CRINGANU, S.T.; CORNILA, N.; (1977-1978). Cercetari asupra vascularizatiei si inervatiei jgheabului esofagian "sulcus reticuli" la oaie. *Lucrari Stiintifice, I.A.N.B., seria C. XX-XXI* 25-30.

PELAGALLI, G.V.; LANGELLA, M.; BUDETTA, G.; PAINO, G. (1974). Caratteristiche morfo-strutturali dell'innervazione della doccia esofagea. **Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.** 23-24 2049-2052.

PELAGALLI, G.V.; LANGELLA, M.; BUDETTA, G.; PAINO, G. (1975). Sulla innervazione della doccia esofagea nei grossi ruminanti. **Atti. Soc. Ital. Sci. Vet.** 28 428-430.

PHILLIPSON, A.T. (1946). The physiology of digestion in the ruminant. **Vet. Rec.** 58 81.

PRICHARD, R.K. (1985). Interaction of host physiology and efficacy of antiparasitic drugs. **Vet. Parasitol.** 18 103-110.

PRICHARD, R.K.; GASCON, L.H.; LANUSSE, C.E. (1991). Selection of route of administration in the treatment of gastrointestinal roundworm infections. **Acta Vet. Scand.** 87 (Suppl.) 65-74.

PRICHARD, R.K.; HENNESSY, D.R. (1981). Effect of oesophageal groove closure on the pharmacokinetic behaviour and efficacy of oxfendazole in sheep. **Res. Vet. Sci.** 30 (1) 22-27.

PRICHARD, R.K.; STEEL, J.W.; HENNESSY, D.R. (1981). Fenbendazole and thiabendazole in cattle: partition of gastrointestinal absorption and pharmacokinetic behaviour. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 4 295-304.

PRICHARD, R.K.; STEEL, J.W. ; LACEY, E.; HENNESSY, D.R. (1985). Pharmacokinetics of ivermectin in sheep following intravenous, intra-abomasal or intraruminal administration. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 8 88-94.

REHAGE, J. (1986). Efficacy of oral glucose after eliciting oesophageal groove contraction in treatment of ketosis in dairy cows. Inaugural-Dissertation

Tierärztliche Hochschule, Hannover. pp. 163.

REINER, N.E.; MALEMUD, C.J. (1984). Arachidonic acid metabolism in murine leishmaniasis (donovani): ex-vivo evidence for increase cyclooxygenase and 5-lipoxygenase activity in spleen cells. **Cell. Immunol.** 88 501-510.

REINER, N.E.; MALEMUD, C.J. (1985). Arachidonic acid metabolism by murine peritoneal macrophages infected with *Leishmania donovani*: in vitro evidence for parasitic-induced alterations in cyclooxygenase and lipoxygenase pathways. **J. Immunol.** 134 556-563.

RIEK, R.F. (1954). The influence of sodium salts on the closure of the oesophageal groove in calves. **Aust. Vet. J.** 30 29-37.

RIGHTER, H.F.; SHOWALTER, D.H.; TESKE, R.H. (1979). Comparative plasma kinetics of orally administered sulfamethazine in clinically parasitized and parasitism-treated lambs. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 2 203-208.

ROBINSON, P.H.; MOWAT, D.N.; CHAPMAN, H.W.; PARKINS, J.J. (1977a). Nipple feeding of supplemental protein to calves. **Can. J. Anim. Sci.** 57 (1) 181-186.

ROBINSON, P.H.; MOWAT, D.N.; PARKINS, J.J.; CHAPMAN, H.W. (1977b). Reticular groove closure for protein supplementation of calves. **Can. J. Anim. Sci.** 56 (4) 839.

RUCKEBUSCH, Y. (1977). Fonction digestive et glandes annexes. In: Physiologie, pharmacologie and therapeutique animales. MALOINE, S.A. Paris. pp. 124-307.

RUCKEBUSCH, Y. (1979). Historical profile of early digestive studies. In: Digestive physiology and metabolism in ruminants. 5th International Symposium on ruminant physiology. MTP PRESS LIMITED. Lancaster.

RUCKEBUSCH, Y.; KAY, R.N.B. (1971). Sur le réflexe de fermeture de la gouttière oesophagienne. **Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys.** 11 (2) 281-282.

RUCKEBUSCH, Y.; PHANEUS, L.-P.; DUNLOP, R. (1991). Ruminant gastrointestinal motility. In: Physiology of small and large animals. pp.233-240.

RUCKEBUSCH, Y.; SOLDANI, G. (1985). Opioid effects on gastrointestinal motor and secretory functions. In: Comparative Veterinary Pharmacology, Toxicology and Therapy. Proceedings of the 3rd Congress of the European Association for Veterinary Pharmacology and Toxicology. Gante. MTP PRESS LIMITED. Lancaster. pp.

SAN ANDRES, M.D. (1992). Influencia del calcio en la contracción del músculo liso del suelo de la gotera reticular bovina. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid.

SCHENK-SABER, B.; SCHNORR, B.; WEYRAUCH, K.D. (1985). Afferent nerve endings in the forestomach mucous membrane of the sheep and goat. **Z. Mikrosk.-Anat. Forsch. (Leipz.)** 99 (5) 773-784.

SCHIFFERLI, D.; GALEAZZI, R.L.; NICOLET, J.; WANNER, M. (1982). Pharmacokinetics of oxytetracycline and therapeutic implications in veal calves. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 5 247-257.

SCHIPPER, I.A. (1964). Rates and routes of sulphonamide excretion in the cow: blood levels following single intravenous and oral administrations. **Brit. Vet. J.** 120 273-278.

SCHOLZ, H. (1990). Utilization of the reticular groove contraction in adult cattle: a therapeutical aid for the practitioner. **Vet. Ann.** 30 49-58.

SCHOLZ, H.; MIKHAIL, M. (1987). Utilization of oesophageal groove contraction in the treatment of internal diseases of adult cattle: elicitation of contraction by intravenous administration of vasopressin. **Tierärz. Ums.** 42 (4) 280-287.

SCHOLZ, H.; MIKHAIL, M.; ASSMUS, G. (1987). Untersuchungen zur nutzung der schlundrinnenkontraktion in der behandlung innerer erkrankungen des erwachsenen rindes 3: mitteilung behandlung unspezifischer durchfalle. **Tierarz. Ums.** 42 (6) 481-489.

SCHOLZ, H.; REHAGE, J. (1987). Stimulation of oesophageal groove contraction in the treatment of internal diseases of adult cattle 4: treatment of primary ketosis. **Tierärz. Ums.** 42 (8) 606-612.

SCHOLZ, H.; THOMSEN, H. (1990). Oral administration of phosphate into the abomasum: can it rapidly overcome acute phosphorus deficiency in cattle?. **Tierärz. Ums.** 45 (10) 719-722.

SCOTT, E.W.; KINABO, L.D.; McKELLAR, Q.A. (1990). Pharmacokinetics of ivermectin after oral or percutaneous administration to adult milking goats. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 13 432-435.

SEREN, E. (1975). Fisiología digestiva y nutrición de los rumiantes. ACRIBIA (Zaragoza).

SERRANO, J.S.; SERRANO, M.I. (1993). Fármacos antitérmicos-analgésicos y antiinflamatorios antigotosos. En: VELASCO, A.; LORENZO, P.; SERRANO, J.S.; ANDRES-TRELLES, F. Velázquez Farmacología. 16ª Ed. INTERAMERICANA McGRAW-HILL. Madrid.

SHOAF, S.E.; SCHWARK, W.S.; GUARD, C.L. (1987). The effect of age and diet on sulfadiazine/trimethoprim disposition following oral and subcutaneous administration to calves. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 10 331-345.

SHUMAKER, R.C. (1986). PKCALC: A basic interactiva computer program for statistical and pharmacokinetic analysis of data. **Drug Metabolism.** 17 331-348.

SILVA, A.G.; CAMPO, O.F.D. (1987). Physiology of the protein digestion in preruminant calves a review. **Pesqui. Agropecu. Bras.** 21 (7) 777-784.

SMITH, R.A.; LEWIS, D. (1987). Cicuta toxicosis in cattle: case history and simplified analytical method. **Vet. Hum. Toxicol.** 29 (3) 240-241.

SMITH, B.L.; REYNOLDS, G.W.; EMBLING, P.P. (1977). Zinc solutions and closure of the reticular groove in sheep. **N.Z.J. Exp. Agric.** 5 261-263.

SMITH, B.L.; REYNOLDS, G.W.; EMBLING, P.P. (1979). Effect of method of oral administration of zinc sulphate on acute zinc toxicity in the sheep. **N.Z.J. Exp. Agric.** 7 (2) 107-110.

SNOW, D.H.; DOUGLAS, T.A.; THOMPSON, H.; HOLMES, P.H.; PARKINS, J.J. (1983). Effect of non-steroidal anti-inflammatory agents on plasma protein concentrations of ponies. **Vet. Res. Commun.** 7 205-206.

SOBACK, S., BOR, A.; KURTZ, B.; PAZ, R.; ZIV, G. (1987a). Clavulanate-potentiated amoxycillin: "in vitro" antibacterial activity and oral bioavailability in calves. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 10 105-113.

SOBACK, S.; KURTZ, B.; ZIV, G. (1987b). Pharmacokinetics of phenoxymethyl penicillin (penicillin V) in calves. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 10 17-22.

SOBACK, S.; ZIV, G.; KURTZ, B.; PAZ, R. (1987c). Clinical pharmacokinetics of five oral cephalosporins in calves. **Res. Vet. Sci.** 43 166-172.

SOBACK, S.; ZIV, G.; KURTZ, B.; RISENBERG, R. (1987d). Age-dependent oral bioavailability of erythromycin thiocyanate in calves. **J. Vet. Med. A.** 34 102-107.

SORACI, A.; ERRECALDE, J.; MESTORINO, N.; LANDONI, F.; MARINO, C. (1991). Bioequivalencia de dos preparados a base de oxfendazol en bovinos. **Med. Vet.** 8 567-570.

STANDAERT, F.E.; HUBER, J.T.; EMERY, R.S. (1978). Rumen bypass of nutrients through esophageal groove closure in suckling cows. **J. Dairy Sci.** 61 (Suppl.) 187-188.

SULLIVAN, M.; SNOW, D.H. (1982). Factors affecting absorption of non-steroidal anti-inflammatory agents in the horse. **Vet. Rec.** 110 554-558.

SUNDLOF, S.F.; WHITLOCK, T.W. (1992). Clorsulon pharmacokinetics in sheep and goats following oral and intravenous administration. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 15 282-291.

THOMPSON, S.M.R.; BLACK, W.D. (1978). A study of the influence of the method of oral administration of ampicillin upon plasma drug levels in calves. **Can. J. Comp. Med.** 42 255-259.

TITCHEN, D.A.; REID, A.M. (1988). Putative roles of peptides in the genesis and control of parasitic diseases. In: Aspects of digestive physiology in ruminants. Proceedings of a Satellite Symposium of the 30th International Congress of the International Union of Physiological Sciences. COMSTOCK PUBLISHING ASSOCIATES. pp.217-237.

TSIAMITAS, CH.; BRIKAS, P. (1981). Forestomach motility in adult sheep when reticular groove closure is provoked by copper sulphate solution. **Ann. Rech. Vet.** 12 (2) 117-121.

TUFENKJI, A.E.; ALVINERIE, M.; HOUIN, G.; GALTIER, P. (1987). Pharmacokinetics of sulphobromophthalein, lidocaine, and indocyanine green in the course of subclinical fascioliasis in sheep. **Res. Vet. Sci.** 43 327-330.

TUNNIELIFF, E.A.; SWINGLE, K.F. (1965). Sulfonamide concentrations in milk and plasma from normal and mastitic ewes treated with sulfamethazine. **Am. J. Vet. Res.** 26 (3) 920-927.

VAN GOGH, H. (1980). Pharmacokinetics of nine sulphonamides in goats. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 3 69-81.

VAN WEEREN-KEVERLING BUISMAN, A.; BREUKINK, H.J.; WENSIGN, T.; MOUWEN, J.M.V.M. (1986). Villous atrophy in ruminal drinkers. Proceedings of 14th World Congress on Diseases of cattle. 2 1152-1156.

VAN WEEREN-KEVERLING BUISMAN, A; UIPER, R.; WENSING, T.; BREUKINK, H.J. (1990). The effect of vasopressin on the closure of the reticular groove in theveal calf. **J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.** 64 (5) 240-249.

VANWEEREN-KEVERLING BUISMAN, A.; MOUWEN, J.M.V.M.; WENSING, T.; BREUKINK, H.J. (1990). Intraruminal administration of milk in the calf as a model for ruminal drinking: morfological and enzymatical changes in the jejunal mucosa. **Vet. Res. Com** 14 (2) 129-140.

VANWEEREN-KEVERLING BUISMAN, A.; NOORDHUIZEN STASSEN, E.N.; BREUKINK, H.J.; WENSING, T.; MOUWEN, J.M.V.M. (1988). Villus atrophy in ruminal drinking calves and mucosal restoration after reconditioning. **Vet. Q.** 10 (3) 164-171.

VAN WYK, J.A.; GERGER, H.M.; ALVES, R.M. (1984). Methods of infesting sheep with gastrointestinal nematodes after cryopreservation dosing of larvae in gelatin capsules compared to dosing of larvae in water suspension. **Onderstepoort. J. Vet.** 51 (4) 217-222.

VEENENDAAL, G.H.; WOUTERSEN-VAN NIJNANTEN, F.M.A.; VAN MIERT, A.S.J.P.A.M. (1980). Responses of goat ruminal musculature to bradykinin and serotonin in vitro and in vivo. **Am. J. Vet. Res.** 41 (4) 479-483.

VIVO, J.M.; ROBINA, A. (1990). El desarrollo del estómago del vacuno: análisis

desde el prisma morfológico y morfométrico. Parte I: observaciones morfogénicas asociadas al bloque ruminoreticular. **Anat. Histol. Embryol.** 19 208-211.

VIVO, J.M.; ROBINA, A. (1991a). El desarrollo del estómago del vacuno: análisis desde el prisma morfológico y morfométrico. Parte II: observaciones morfogénicas asociadas al bloque omaso-abomásico. **Anat. Histol. Embryol.** 20 10-17.

VIVO, J.M.; ROBINA, A. (1991b). El desarrollo del estómago del vacuno: análisis desde el prisma morfológico y morfométrico. Parte III: reconstrucción espacial y morfometría. **Anat. Histol. Embryol.** 20 18-29.

VYNCKIER, L.J.; DEBACKERE, M. (1991). Plasma ronidazole concentrations in sheep after intravenous, oral, intraruminal and intraabomasal administration. **Acta Vet. Scand.** 87 (Suppl.) 109-110.

VYNCKIER, L.J.; DEBACKERE, M.; VERCRUYSE, J.; McKELLAR, Q.A. (1991). The influence of *Ostertagia circumcincta* and *Trichostrongylus colubriformis* infestation on the pharmacokinetics of febantel in lambs. **Acta Vet. Scand.** 87 (Suppl.) 404-405.

WADLEIGH, J.A.; MOWAT, D.N. (1978). Nipple feeding of 2 types of protein supplements to calves. **Can. J. Anim. Sci.** 58 (3) 385-390.

WAGNER, J.G. (1983). Farmacocinética clínica. Ed. REVERTE, S.A. (Barcelona).

WANG, J.H.; MIDDLETON, D.J.; HUMPHREYS, D.J. (1990). Effects of monensin on the bioavailability and elimination of selenium from blood in lambs. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 13 378-385.

WATSON, A.D.J.; VAN GOGH, H.; VAN DEURZEN, E.J.M.; VAN DUIN, C.T.M.; VAN MIERT, A.S.J.P.A.M. (1987). Pharmacokinetics of three sulphonamides in ruminant and preruminants kids. **Res. Vet. Sci.** 43 208-216.

WEISS, D.J.; KLAUSNER, J.S. (1990). Drug-associated aplastic anemia in dogs: eight cases (1984-1988). **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 196 472-475.

WELLS, P.W.; EYRE, P.; LUMSDEN, J.H. (1973). Hematological and pathological changes in acute systemic anaphylaxis in calves: effects of pharmacological agents. **Can. J. Comp. Med.** 37 119-129.

WEYNS, A.; OOMS, L.A.A.; VERHOFSTAD, A.; PEETERS, T.H.; DEBRYSE, A.D.; VAN NASSAUW, L.; KREDIET, P. (1987). Neurotransmitters/neuromodulators involved in the motor and secretory functions of the ruminant stomach: a histochemical, radioimmunological, immunocytochemical and functional approach. In: OOMS, L.A.A.; DEGRYSE, A.D.; VAN MIERT, A.S.J.P.A.M. Physiological and Pharmacological aspects of the reticulo-rumen. MARTINUS NIJHOFF PUBLISHERS. pp. 43-112.

WINDER, R.C.V.; KAUMP, D.H.; GLAZKO, A.J.; HOLMES, E.L. (1966). Experimental observations on flufenamic, mefenamic and meclofenamic acids. **Ann. Physic. Med. Suppl.** 7-49.

WISE, G.H.; ANDERSON, G.W.; LINNERUD, A.C. (1984). Relationship of milk intake by sucking and by drinking to reticular groove reactions and ingestion behaviour in calves. **J. Dairy Sci.** 67 (9) 1983-1992.

WRENN, T.R.; BITMAN, J.; McDONOUGH, F.E.; WEYANT, J.R.; WOOD,

D.L. (1980). Feeding cholesterol and tallow in liquid diets to veal calves. **J. Dairy Sci.** 63 (9) 1403-1411.

ZAMBRASKI, E.J.; SCHULER, R. (1980). Failure of prostaglandin inhibition to attenuate the tolerance to hemorrhage in domestic chicken. **Poultry Sci.** 59 2567-2569.

ZAREMBA, W. (1983). Feeding technique and its importance for the health of newborn calves with reference to diarrhoea. **Praktische.-Tierarzt.** 64 (11) 977-992.

ZIV, G.; LEVISOHN, S.L.; BAR-MOSHE, B.; BOR, A.; SOBACK, S. (1983). Clinical pharmacology of tiamulin in ruminants. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 6 23-32.

ZIV, G.; SOBACK, S.; BOR, A; KURTZ, B. (1986). Clinical pharmacokinetics of flumequine in calves. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 9 171-182.